Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale,, n. 274 del 23 novembre 1987 - Serie generale

Spedizione in abbonamento postale - Gruppo I (70%)

GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA **Roma - Lunedì, 23 novembre 1987** SI PUBBLICA NEL POMERIGGIO DI TUTTI I GIORNI MENO I FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA 70 - 00100 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA G. VERDI 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 85081

N. 99

MINISTERO
DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETO MINISTERIALE 7 gennaio 1987.

Metodi ufficiali di analisi per le sementi.

SOMMARIO

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETI E ORDINANZE MINISTERIALI

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETO 7 gennaio 1987.

Metodi ufficiali di analisi per le sementi.

IL MINISTRO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DI CONCERTO CON

IL MINISTRO DELLE FINANZE

E

IL MINISTRO DELLA SANITÀ

Visto l'art. 43 del regio decreto-legge 15 ottobre 1925, n. 2033, convertito nella legge 18 marzo 1926, n. 562, riguardante la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio di sostanze di uso agrario e di prodotti agrari e l'art. 108 del regolamento per la esecuzione dello stesso regio decreto-legge, approvato con regio decreto-legge 1° luglio 1926, n. 136, i quali prescrivono che le analisi occorrenti in applicazione delle norme contenute nel regio decreto-legge e nel regolamento suddetti dovranno essere eseguite, dai laboratori incaricati con i metodi di analisi prescritti da questo Ministero, di concerto con quelli delle finanze e della sanità;

Visto il decreto ministeriale 9 settembre 1966, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 238 del 24 settembre 1966, con il quale sono stati approvati i «Metodi ufficiali di analisi delle sementi»;

Vista la legge 25 novembre 1971, n. 1069, concernente «Disciplina dell'attività sementiera», pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 322 del 22 dicembre 1971, nonché le modifiche di cui alla legge 20 aprile 1976, n. 195, pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 124 del 12 maggio 1976, al decreto del Presidente della Repubblica 8 giugno 1978, n. 373, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 199 del 18 luglio 1978, ed al decreto del Presidente della Repubblica 10 maggio 1982, n. 517, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 217 del 9 agosto 1982;

Visto il decreto del Presidente della Repubblica 8 ottobre 1973, n. 1065, contenente il «Regolamento di esecuzione della legge 25 novembre 1971, n. 1096», pubblicato nel supplemento alla *Gazzetta Ufficiale* n. 95 del 10 aprile 1974 e le relative modificazioni di cui al decreto del Presidente della Repubblica 1° ottobre 1981, n. 809, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 8 del 9 gennaio 1982 e al decreto del Presidente della Repubblica 18 gennaio 1984, n. 27, pubblicato nel supplemento alla *Gazzetta Ufficiale* n. 79 del 20 marzo 1984;

Ritenuto necessario di procedere all'aggiornamento ed all'integrazione delle metodiche analitiche di cui al citato decreto ministeriale 9 settembre 1966;

Sentito il parere della commissione per l'aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi per i prodotti agrari e per le sostanze di uso agrario - Sottocommissione per le sementi, di cui al decreto ministeriale 11 febbraio 1981, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 204 del 27 luglio 1981;

DECRETA

1. Sono approvati i «Metodi ufficiali di analisi per le sementi», descritti nell'allegato al presente decreto.
2. È abrogato il decreto ministeriale 9 settembre 1966.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, addì 7 gennaio 1987

Il Ministro dell'agricoltura e delle foreste
PANDOLFI

Il Ministro delle finanze
VISENTINI

Il Ministro della sanità
DONAT CATTIN

METODI UFFICIALI DI ANALISI
PER LE SEMENTI

1° — CAMPIONAMENTO

Al fine di conseguire i risultati d'analisi validi e ripetibili è indispensabile che il campione sia rappresentativo del lotto di seme da cui viene prelevato e che nel prelievo dei campioni venga applicata la idonea metodologia.

Le metodologie di campionamento, per l'applicazione delle leggi vigenti che disciplinano l'attività sementiera, sono indicate nel presente capitolo.

1.1. Lotto di seme.

Il lotto è la quantità di seme fisicamente identificabile e uniforme, di peso non superiore a quello indicato nella successiva sezione 1.1.2., a cui si riferisce un certificato di analisi.

1.1.1. *Uniformità del lotto.*

Caratteristica distintiva del lotto è la sua uniformità, della quale deve accertarsi il tecnico che effettua il campionamento.

Qualora egli ritenga che il lotto da campionare sia disforme, la ditta deve procedere ad un rimescolamento della massa al fine di renderla uniforme; oppure, ove è possibile, l'intera massa di seme potrà anche essere ripartita in due o più frazioni, ciascuna costituente un lotto diverso.

1.1.2. *Peso del lotto.*

Un lotto di seme non deve superare i pesi indicati, per ciascuna specie, nella colonna 3 delle tabelle di cui all'allegato I, con una tolleranza in più del 5%. I quantitativi eccedenti tali limiti costituiscono un nuovo lotto.

Per le specie non indicate nell'allegato I il peso massimo del lotto è uguale a quello delle specie con semi di analoghe dimensioni citate nella tabella stessa.

1.1.3. *Identificazione del lotto.*

Ogni lotto di seme deve essere opportunamente marcato per poterlo identificare e distinguere da ogni altro lotto.

All'atto del campionamento tutte le confezioni costituenti un lotto devono essere contrassegnate mediante l'apposizione di etichette (anche adesive) o mediante marcatura indelebile direttamente sulla confezione e devono essere sigillate.

Una confezione deve essere considerata sigillata quando è chiaramente impossibile aprirla senza che venga distrutto il sigillo o rimanga evidente prova di manomissione (es. sacchi di plastica sigillati a caldo, barattoli di latta. ecc.).

1.2. Campionamento del lotto.

1.2.1. *Definizioni:*

a) Campione elementare: è la quantità di seme che proviene da ogni singolo prelievo effettuato sul lotto.

b) Campione globale: è la quantità di seme che si ottiene unendo e mescolando tutti i campioni elementari.

c) Campione medio finale di prelevamento: è la quantità di seme, di peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I che, prelevata con opportuni metodi dal campione globale, viene inviata al laboratorio. Dal campione globale si possono prelevare più campioni medi finali a seconda della finalità del campionamento.

d) Campione di analisi: è la quantità di seme prescritta per l'analisi, prelevata in laboratorio dal campione medio finale di prelevamento e di peso non inferiore a quelli indicati nelle colonne 5 e 6 delle tabelle di cui all'allegato I.

1.2.2. *Frequenza di campionamento:*

Il numero minimo di campioni *elementari* da prelevare da ciascun lotto, secondo le modalità indicate nella successiva sezione 1.2.4., è il seguente:

a) se il seme è in sacchi da 100 kg o in confezioni similari e di dimensioni uniformi:

fino a 5 confezioni: 1 campione ogni imballaggio, ma comunque non meno di 5 campioni elementari;
fino a 30 confezioni: almeno 1 campione ogni 3 confezioni e comunque non meno di 5 campioni elementari;
oltre le 30 confezioni: almeno 1 campione ogni 5 confezioni e comunque non meno di 10 campioni elementari.

b) Se le confezioni sono di peso inferiore a 100 kg, si raggruppano più confezioni fino a raggiungere l'unità di campionamento più prossima per difetto a 100 kg, (es.: 4 confezioni da 25 kg o 30 confezioni da 3 kg, o 1 confezione da 60 kg e una da 30 kg). Si procede poi come al punto *a)*.

c) Se il campionamento è effettuato su seme sfuso (in mucchio, in cassoni, in vagoni ecc.) o che si muove in flusso continuo la frequenza del campionamento è la seguente:

fino a 500 kg: almeno 5 campioni elementari, fatta eccezione per i lotti inferiori a 50 kg dai quali occorre prelevare almeno 3 campioni elementari;

da 501 a 3.000 kg: 1 campione elementare ogni 300 kg ma non meno di 5 campioni elementari;

da 3.001 a 40.000 kg: 1 campione elementare ogni 500 kg ma non meno di 10 campioni elementari.

1.2.3. *Strumenti di campionamento o sonde:*

a) Sonda lunga (m 1) per sacchi:

1) *Tipo per semi grossi* — (es. frumento, mais, bietola) a due tubi cilindrici ruotanti l'uno internamente all'altro, divisi in 6 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig. 1a.

2) *Tipo per semi piccoli* — (es. medica, cipolla, loietto ecc.) a due tubi cilindrici ruotanti l'uno internamente all'altro, divisi in 9 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig. 1b.

b) Sonda lunga (m 2) per casse, silos, ecc. — a due tubi cilindrici, ruotanti l'uno internamente all'altro, divisi in 11 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig. 1c.

c) Sonda corta (m 0,40) — a due tubi cilindrici senza partizioni, ruotanti l'uno internamente all'altro, provvisti di un'unica apertura rettangolare lunga 230 mm, con una punta conica con vertice distante 70 mm dall'inizio della finestra e aperta all'impugnatura:

1) *Tipo per semi grossi* — diametro del tubo esterno 18 mm, larghezza della finestra 13 mm (fig. 1d).

2) *Tipo per semi piccoli* — diametro del tubo esterno 11 mm, larghezza della finestra 7 mm (fig. 1e).

d) Sonda Tipo Nobbe — tubo singolo lungo approssimativamente 500 mm compresa la impugnatura di 100 mm e una punta di 60 mm. Appena sopra la punta essa presenta una apertura ovale lunga 60 mm. Il diametro del tubo deve essere di 14 mm per i semi grossi e di 10 mm per i semi piccoli.
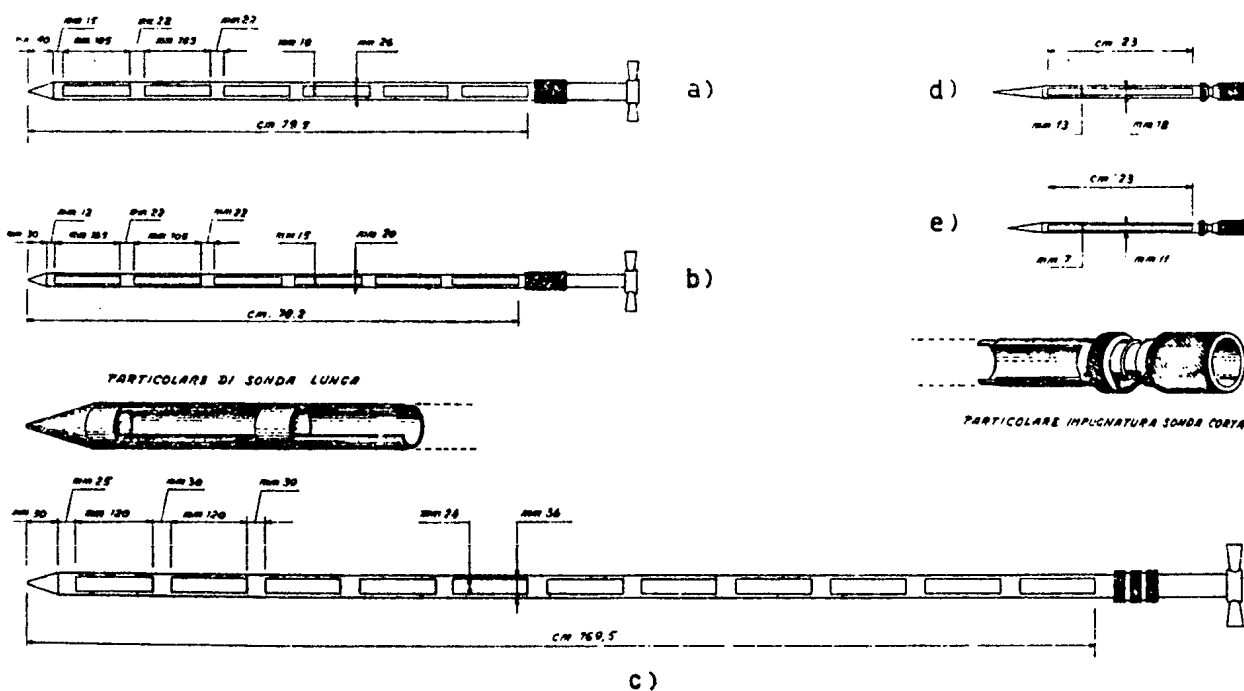
Fig. 1

1.2.4. *Metodi di campionamento:*

a) Sacchi aperti: si usa la sonda lunga introducendola, in posizione chiusa, diagonalmente fino a toccare il fondo. Quindi viene aperta, agitata leggermente per facilitare l'ingresso del seme, richiusa ed estratta.

La sonda va poi vuotata su una superficie pulita e piana in modo da poter osservare l'uniformità del seme fra i singoli compartimenti.

b) Sacchi chiusi: si usa la sonda corta sez. 1.2.3.c) o la sonda Nobbe sez. 1.2.3.d).

Queste si introducono nel sacco in direzione ascendente con un angolo di circa 30° con l'orizzontale. La prima va introdotta in posizione chiusa; poi si apre, si lascia entrare il seme, si richiude e si estrae dal sacco.

La sonda Nobbe si introduce con l'apertura ovale rivolta verso il basso, si gira di circa 180° riportando il foro verso l'alto e si ritira lentamente in modo da conseguire un prelevamento uniforme per tutta la sezione esplorata.

L'introduzione della sonda nei sacchi prescelti deve aver luogo alternativamente in alto, in mezzo e in basso.

c) Piccole confezioni chiuse (di carta, di plastica, metalliche ecc.).

Ove possibile si procede al campionamento durante le operazioni di confezionamento del seme (sez. 1.2.4.e). Diversamente si apre un numero sufficiente di contenitori, previo loro raggruppamento in unità di campionamento (sez. 1.2.2.b). Il seme residuo dei contenitori campionati può essere reintegrato nel lotto.

d) Semente alla rinfusa (mucchio, cassoni, ecc.).

Il seme prima del prelevamento va sistemato spianandolo fino a ridurlo ad uno strato di spessore uniforme non superiore a 2 m ed a base pressoché rettangolare. Il prelevamento deve essere effettuato in non meno di 5 punti diversi, dei quali uno al centro e i rimanenti 4 lungo le diagonali a 2/3 di distanza dal centro (fig. 2) o ad ogni 2 m di distanza se le diagonali superano i 6 m di lunghezza (fig. 3).
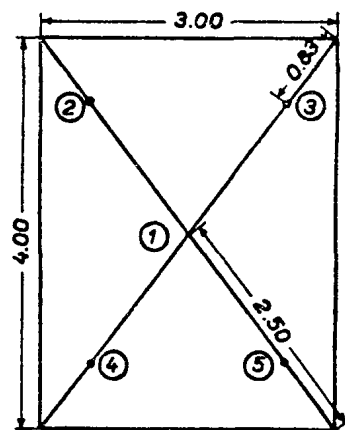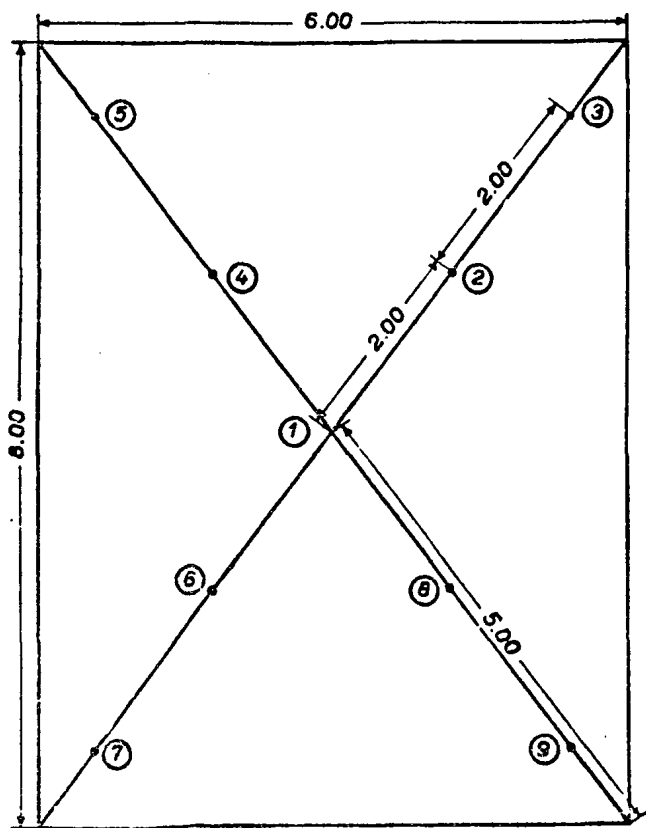
Fig. 2. — Lunghezza della diagonale (d): 5 m

$$1{,}3 \frac{d}{2} = 0{,}83 \text{ m}$$

distanza del punto di prelevamento dal vertice.

N.B. I numeri racchiusi da un cerchietto contrassegnano i punti in cui deve aver luogo il prelevamento della semente.

Fig. 3. — Lunghezza della diagonale: 10 m

e) Seme che si muove in flusso.

I prelievi devono essere eseguiti con un recipiente di sezione tale da comprendere quella del flusso, interponendolo a questo. La periodicità del prelevamento e il quantitativo di ogni prelievo saranno regolati in maniera da ottenere almeno 50 g di seme per ogni quintale fluito.

f) Sementi poco scorrevoli.

Per le sementi per le quali non è possibile l'uso della sonda perché poco scorrevoli, il prelievo dei campioni si fa con le mani o con strumenti diversi dalle sonde. In questi casi i contenitori prescelti devono essere vuotati per consentire il prelievo del campione elementare procedendo come alla sezione 1.2.4.d).

Il campionamento può essere fatto anche durante il confezionamento del seme (sez. 1.2.4.e).

g) Qualunque metodo si usi, i campioni elementari devono essere fra loro confrontati per giudicare l'uniformità del lotto. In caso di manifesta disformità si opera come indicato alla sezione 1.1.1.

1.3. FORMAZIONE DEL CAMPIONE GLOBALE E MEDIO FINALE DI PRELEVAMENTO.

1.3.1. *campione globale.*

Per formare il campione globale si riuniscono, rimescolandoli accuratamente, tutti i campioni elementari.

1.3.2. *Campione medio finale di prelevamento.*

Si ottiene disponendo il campione globale in uno strato di spessore uniforme su una superficie piana e pulita. Poi si prelevano quantitativi uguali di seme da non meno di 5 punti diversi dello strato, fino ad ottenere la quantità di seme prescritta per il campione medio finale di prelevamento (1.3.3.).

A tale scopo si impiega uno strumento che renda possibile il prelievo dell'intero spessore dello strato di semente nei punti prescelti.

Nel caso si debbano formare più campioni medi finali si opera altrettante volte nel modo descritto previo rimescolamento, ogni volta, del campione globale residuo.

Per la determinazione dell'umidità del seme il campione medio viene formato per primo e immediatamente dopo la formazione del campione globale; esso deve essere subito chiuso in contenitori a tenuta stagna, mentre i campioni per le altre determinazioni devono essere posti in contenitori permeabili all'aria.

1.3.3. *Peso minimo del campione medio finale di prelevamento:*

a) I campioni destinati alle diverse analisi, esclusa quella dell'umidità, devono avere un peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I, salvo i casi in cui particolari norme regolamentari indichino pesi differenti.

b) I campioni destinati alla *determinazione dell'umidità*, devono essere di peso non inferiore a:

100 g per le specie che devono essere macinate
50 g per tutte le altre specie.

c) I campioni di miscugli dovranno avere un peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I per la specie componente il miscuglio avente semi di maggior peso unitario.

d) Nel caso in cui il campione prelevato sia di peso inferiore a quello minimo prescritto, per documentata carenza di seme, può essere effettuata ugualmente l'analisi purché sia indicato sul certificato il peso del campione.

1.4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE DI ANALISI.

I campioni di analisi devono presentare le stesse caratteristiche del campione medio finale di prelevamento cui si riferiscono e devono essere di peso non inferiore a quello indicato per ciascuna analisi.

1.4.1. *Metodi di preparazione.*

Poiché ogni analisi deve essere effettuata in doppio, il campione di analisi deve essere costituito da due sottocampioni che devono essere prelevati indipendentemente l'uno dall'altro. Dopo il prelievo del primo sottocampione, il restante seme deve essere rimescolato prima di prelevare il secondo. Allo scopo deve essere usato uno dei seguenti metodi:

a) Preparazione meccanica — Si usano i seguenti apparecchi:

Divisore conico (Tipo Boerner) — È costituito da una tramoggia, nella quale si versa l'intero campione, e da 19 canali, disposti circolarmente, che indirizzano il seme alternativamente ad uno dei due recipienti sottostanti. Esso è particolarmente indicato per i semi scorrevoli.

Divisore orizzontale (Tipo Soil divider) — È basato sullo stesso principio del divisore conico, ma i canali sono disposti su uno stesso piano orizzontale. È particolarmente indicato per i semi poco scorrevoli (graminacee, ecc.) e per le sementi confettate.

Il campione versato nella tramoggia, scorre lungo i canali, dividendosi a metà. Una delle due metà viene poi ulteriormente suddivisa e così di seguito fino a raggiungere un peso non inferiore alla metà di quello prescritto. Il rimanente seme viene rimesso tutto nella tramoggia e si ripete l'operazione per ottenere il secondo sottocampione.

b) Preparazione a mano — Dopo un preliminare mescolamento del campione, si versa il seme su un vassoio con un movimento oscillatorio e alternativamente in una direzione ed in quella alla prima perpendicolare, fino a coprire uniformemente la superficie del vassoio facendo attenzione di non scuotere il vassoio stesso. Con l'ausilio di una spatola o di un cucchiaio si prelevano poi piccole quantità di seme da non meno di cinque punti diversi del vassoio, e, per ogni punto, da tutto lo spessore dello strato, fino a raggiungere un peso non inferiore alla metà di quello prescritto. Il rimanente seme viene nuovamente mescolato e versato sul vassoio come in precedenza per la preparazione del secondo sottocampione.

1.5. CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI IN LABORATORIO.

I campioni, effettuata l'analisi, devono essere conservati per almeno un anno in ambiente ben ventilato, con temperatura e umidità relativa dell'aria sufficientemente basse.

Fanno eccezione i semi di alcune specie forestali a rapido deterioramento per i quali tale periodo può essere limitato a sei mesi.

2° — VERIFICA E DETERMINAZIONE DELLA SPECIE

La verifica e la determinazione della specie vengono effettuate in base alle caratteristiche del seme e, ove idonee, della plantula in fase di germinazione. Se tale verifica, in laboratorio, risulta difficile o incerta occorre, in ogni caso, determinare il genere. La determinazione della specie, qualora richiesta, può essere completata anche con prove colturali.

Nel certificato di analisi deve essere indicato il nome botanico del genere e della specie e il nome volgare quando sia conosciuto. Nel caso in cui la indicazione della specie risulti impossibile o incerta, si deve indicare solo il nome botanico del genere. Nel caso di specie difficili da distinguere si procede come indicato nella sezione 3.4.

3° — ANALISI DELLA PUREZZA

3.1. Scopo.

La determinazione della purezza ha per scopo di identificare le varie specie di semi e le materie inerti che costituiscono il campione, per dedurre la composizione del lotto dal quale il campione proviene.

3.2. Peso minimo del campione di analisi:

a) Per le specie elencate nelle tabelle dell'allegato I, il peso del campione di analisi non deve essere inferiore a quello indicato nella colonna 5 di dette tabelle.

b) Per le specie non elencate in dette tabelle, esso deve corrispondere a quello delle specie aventi semi di peso unitario simile, salvo i casi con particolari norme regolamentari.

c) Per i miscugli si seguiranno le norme seguenti:

I — qualora una specie o un gruppo di specie con semi di pari peso unitario siano dichiarate o valutate orientativamente come costituenti oltre il 50% del miscuglio, il peso del campione di analisi deve corrispondere a quello indicato nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I per quella specie o per quel gruppo di specie.

II — Qualora ciascuna specie o ciascun gruppo di specie con semi di pari peso unitario siano dichiarate inferiori od orientativamente presenti nel miscuglio in quantità inferiori al 50%, il peso del campione di analisi deve corrispondere alla media ponderata dei pesi indicati nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I per ciascuna specie componente il miscuglio (1).

---

(1) Per esempio: (I valori utilizzati sono puramente indicativi ai fini di un calcolo semplificato)

Specie componenti il miscuglio (1)	Percentuali dichiarate o valutate (2)	Percentuali arrotondate delle specie o gruppi di specie di peso diverso (3)	Pesi (g) desunti dalla colonna 5 delle tabelle dell'allegato I (4)	Col. (3) x (4) (5)
Agrostis gigantea	5,80	6	0,5	3
Festuca rubra	15,35 }	40	1,0	40
Trifolium repens	24,48 }			
Lolium multiflorum	18,76 }	40	2,5	100
Medicago sativa	21,37 }			
Trifolium incarnatum	11,54	12	5,0	60
		98		203

Media ponderata $= \frac{203}{98} = 2{,}07$.

Peso minimo del campione d'analisi del miscuglio = grammi 2.

d) I due sottocampioni di analisi (sez. 1.4.1.) devono essere di peso non inferiore alla metà di quello prescritto nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I e devono essere pesati in grammi con un numero di cifre decimali come indicato nel prospetto seguente:

Peso del campione di analisi in grammi		Numero di cifre decimali da considerare
Inferiore a	1	4
Da 1 a	9,999	3
Da 10 a	99,99	2
Da 100 a	999,9	1
Uguale o superiore a	1.000	0

3.3. DEFINIZIONI.

Il campione di analisi va scomposto nelle seguenti frazioni:

a) seme puro;

b) semi estranei;

c) materie inerti.

3.3.1. *Seme puro.*

Il seme puro comprende i semi della o delle specie indicate sulla confezione e/o sulla etichetta o trovate come predominanti nel campione senza distinzione fra le varietà botaniche e le cultivars della o delle specie in esame.

Esso è costituito:

a) semi intatti, anche se immaturi, raggrinziti, ammalati o germinati, purché possano essere chiaramente identificati come appartenenti alla specie a meno che non siano trasformati in sclerozi, ricettacoli fungini o galle di nematodi;

b) pezzi di seme, di acheni, di mericarpi, di cariossidi di dimensioni superiori alla metà delle loro dimensioni originarie;

c) semi danneggiati da insetti, purché la porzione rimasta sia giudicata dall'analista superiore alla metà delle dimensioni originarie del seme. Non è necessario comunque rigirare ogni singolo seme per rilevare la presenza o l'assenza di buchi o di altre zone danneggiate anche nella parte sottostante del seme;

d) acheni o frutti similari, schizocarpi e mericarpi con o senza perianzio, senza badare se contengono o meno un vero seme, a meno che ne sia, a prima vista, chiaramente evidente l'assenza; nel qual caso essi vanno inclusi fra le materie inerti. Queste strutture seminali devono essere esaminate soltanto superficialmente, senza far uso di pressioni, ingrandimenti, diafanoscopi ed altri speciali attrezzi;

e) glomeruli di *Beta*, (eccetto le cultivars monogermi genetiche) e pezzi di glomeruli con o senza un vero seme, che sono trattenuti su un setaccio rettangolare di 200 x 300 mm, con fori rettangolari di 1,5 x 20 mm, dopo setacciatura di un minuto;

f) spighette uniflore di *Lolium, Festuca, Agropyron repens* con cariosside lunga almeno 1/3 della lunghezza della palea misurata alla base della rachilla. negli altri generi e specie invece le spighette uniflore con cariosside di qualsiasi dimensione;

g) fiori sterili attaccati a fiori fertili nei seguenti generi: *Arrhenatherum, Avena, Dactylis, Festuca, Holcus, Poa* e *Sorghum* non devono essere staccati; si considera il tutto come seme puro. Tale procedura si applica anche ai fiori sterili attaccati del genere *Lolium* quando non superano l'apice del fiore fertile esclusa la resta.

h) cariossidi nude;

i) per *Poa pratensis* e *Dactylis glomerata*, qualora sia previsto il metodo con corrente d'aria uniforme, vedere sezione 3.6.

l) semi alati di piante forestali allorché l'ala o porzione di essa faccia parte integrante del seme o sia difficilmente staccabile (ad esempio rispettivamente, *Acer, Alnus, Betula, Chamaecyparis, Cupressus, Fraxinus, Albies, Libocedrus, Pseudotsuga*, varie specie di *Pinus*).
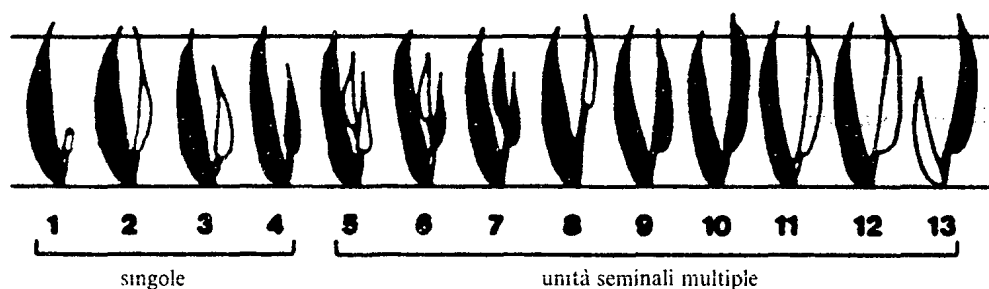
Fig. 4. — Le porzioni in nero rappresentano i fiori fertili
le porzioni in bianco rappresentano i fiori sterili.

m) unità seminali multiple. Nei seguenti generi, *Dactylis e Festuca*, le unità seminali multiple possono essere pesate separatamente e riportate sul certificato quando la loro presenza è superiore all'1%.

Sono definite unità seminali multiple le seguenti strutture (fig. 4):

un solo fiore fertile con un fiore fertile o sterile attaccato che si estende anche oltre l'apice del fiore fertile escludendo la resta (8-12);

un solo fiore fertile con più di un fiore fertile o sterile attaccato di qualsiasi lunghezza (5-7);

un fiore fertile con attaccato alla base un fiore sterile di qualsiasi lunghezza (13).

I fiori con attaccati fiori singoli fertili o sterili che non si estendono oltre l'apice del fiore fertile, escludendo la resta sono considerati unità seminali singole (1-2-3-4). I fiori fertili o sterili attaccati non vanno rimossi. (da I.S.T.A. Rules 1985).

3.3.2. *Semi estranei.*

In questa categoria si comprendono tutti i semi e le strutture seminali di tutte le specie diverse da quella o da quelle in esame costituenti il seme puro. Riguardo la loro classificazione nel gruppo degli altri semi o delle materie inerti si applicano gli stessi criteri usati per i semi puri (sez. 3.3.1.), fatta eccezione per il caso della *Cuscuta spp.* (sez. 3.3.3.i).

3.3.3. *Materiali inerti:*

A — *Semi e strutture seminali:*

a) Pezzi di semi, acheni, mericarpi e cariossidi rotte o danneggiate di dimensioni uguali o inferiori alla metà delle loro dimensioni originali;

b) i semi di *Leguminosae, Cruciferae e Coniferae* completamente privi di tegumento;

c) semi danneggiati da insetti purché sia evidente, a prima vista, che la porzione mancante supera la metà delle dimensioni originarie del seme (sez. 3.3.1.c);

d) strutture definite nella sezione 3.3.1.d, nelle quali sia evidente l'assenza di un vero seme;

e) glomeruli di *Beta* (eccetto le cultivars monogermi genetiche) e pezzi di glomeruli che passano attraverso maglie rettangolari di 1,5 x 20 mm, di un setaccio rettangolare di 200 x 300 mm dopo setacciatura di un minuto;

f) spighette uniflore di *Lolium, Festuca, Agropyron repens* con cariosside lunga meno di un terzo della lunghezza della palea;

g) glume vuote, lemme, palee, fiori sterili staccati da quelli fertili, spighette con cariossidi di dimensioni inferiori a 1/3 della lunghezza della palea (sez. 3.3.1.f);

h) per *Poa pratensis* e *Dactylis glomerata*, per le quali è prescritto il metodo della corrente d'aria uniforme, vedere sezione 3.6.;

i) semi di *Cuscuta spp.* fragili (frequentemente appiattiti) di colore grigio cenere fino a bianco crema;

l) ali ed altre espansioni seminali rotte e staccate;

m) ali o porzioni d'ala attaccate che non facciano parte integrante di semi forestali e che siano facilmente staccabili (2).

B — *Altri materiali:*

terra, foglie, steli, paglie, squame, pezzi di corteccia, boccioli fiorali, galle di nematodi, corpi fungini e ogni altro materiale che non sia seme.

3.4. SPECIE DIFFICILI DA DISTINGUERE.

Quando è impossibile o difficile distinguere i semi di due o più specie, si può procedere come segue:

A — Si classificano come seme puro tutti i semi appartenenti al genere (ad es. i semi di *Lolium* sia mutici che aristati) indicando sul certificato di analisi solo il nome del genere (*Lolium spp.*).

B — Dal seme puro classificato come al punto *A*, vengono presi a caso, almeno 400 semi sui quali si esegue una più accurata separazione ai fini dell'individuazione della specie. Si calcolano poi le proporzioni in peso delle frazioni separate rapportandole infine al peso complessivo del campione di analisi secondo la formula seguente:

$$S = \frac{m_3 \times m_1}{m_2 \times m} \times 100$$

dove: S = percentuale in peso di una specie o frazione separata.
m = peso di tutto il campione di analisi.
m_1 = peso del seme puro.
m_2 = peso dei 400 semi utilizzati per la separazione definitiva.
m_3 = peso della specie o frazione separata da m_2.

Se è adottato questo procedimento il risultato va riportato nel certificato di analisi sotto la voce: «altre determinazioni ed osservazioni» indicando anche il numero di semi esaminati.

3.5. ESECUZIONE DELL'ANALISI.

L'analisi della purezza si esegue su ciascuno dei due sottocampioni di analisi (sez. 3.2.d).

L'esecuzione dell'analisi consiste nella suddivisione del campione nelle parti indicate nella sezione 3.3. Nella separazione delle diverse parti non si deve manipolare o rivoltare ciascun elemento, salvo i casi in cui si devono staccare le parti considerate materie inerti (sez. 3.3.3.). È consentito l'uso di dispositivi come la luce riflessa e setacci per separare i fiori sterili di Graminaceae e i frammenti di semi risultanti da rotture e da danni di insetti o di malattie. È pure ammesso l'uso dei soffiatori per separare i costituenti leggeri, come paglie, fiori vuoti di Graminaceae, ecc., dai semi più pesanti.

3.6. METODO DELLA CORRENTE D'ARIA UNIFORME.

Questo metodo è previsto per *Poa pratensis*, e per *Dactylis glomerata*, nelle analisi per il commercio internazionale. A tale scopo si usa un «soffiatore» per semi che deve fornire una corrente d'aria uniforme e graduabile per le singole specie, suscettibile di standardizzazione e in grado di trattenere tutte le particelle separate.

L'apparecchio deve essere calibrato prima di ogni operazione per mezzo di un campione di ciascuna specie standardizzato dall'I.S.T.A. (International Seed Testing Association). Il peso del campione di analisi è di 1 g per *Poa pratensis* e di 3 g *Dactylis glomerata*.

3.6.1. *Procedimento.*

Sistemato il soffiatore al punto di calibratura ottenuto con il campione standard, si sottopone il campione d'analisi alla corrente d'aria per 3 minuti frazionandolo così in due parti. Su ciascuna di queste si fa poi la valutazione dei costituenti come segue:

(2) Le ali devono essere rimosse completamente in *Cedrus, Picea Tsuga e Pinus* e parzialmente, salvo cioè quella parte che avvolge il seme ed è di difficile distacco, in *Abies, Larix, Libocedrus, Pseudotsuga* e alcuni *Pinus*.

A — *Parte pesante:* sono considerati:

a) seme puro:

spighette singole complete;

tutti i fiori intatti multipli di *Poa pratensis* e le unità seminali multiple di *Dactylis glomerata* (3.3.1.m);

spighette con corpi fungini, come sclerozi interamente rinchiusi fra lemma e palea;

spighette e cariossidi danneggiate da insetti o ammalate;

spighette e cariossidi rotte di dimensioni superiori alla metà delle dimensioni originarie;

b) materiali inerti:

spighette con sclerozi che escono dall'apice;

spighette e cariossidi rotte di dimensioni uguali o inferiori alla metà delle dimensioni originarie;

c) gli altri semi (compresi altre specie di *Poa*), i bastoncini, i piccioli, granelli di sabbia ecc., devono essere classificati secondo le sezioni 3.3.2. e 3.3.3.B.

B — *Parte leggera:*

tutte le spighette e le cariossidi di *Poa pratensis, Dactylis glomerata* e altro materiale devono essere considerate come materia inerte;

altri semi (comprese altre *Poa spp.* in *P. pratensis*), bastoncini, piccioli, sabbia, ecc. devono essere classificati secondo le sezioni 3.3.2. e 3.3.3.B. Quando spighette fertili di alcune *Poa spp.* (ex. *Poa trivialis* e *P. compressa*) sono presenti in un campione di *Poa pratensis* è necessario esaminare l'intera frazione leggera sotto ingrandimento. Se i semi di queste specie sono presenti in misura limitata (1-3%) è facile separarli sia dalla parte leggera sia da quella pesante e calcolare la percentuale di altri semi sulla base del peso totale. Se essi sono invece presenti in maggior misura (3-5%) si può usare il seguente metodo alternativo: spighette fertili di altre *Poa spp.* possono essere tolte dalla porzione pesante. Si prendono quindi a caso 400 spighette (ma preferibilmente 800 o 1.000) e con l'ausilio di lenti di ingrandimento si separano le diverse specie di *Poa* e poi si determina la percentuale di ciascuna in peso.

3.7. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

3.7.1. *Calcolo.*

Dopo la separazione si pesano le singole parti con il numero di cifre decimali indicato nella sezione 3.2.d.

La percentuale deve essere calcolata sulla somma dei pesi dei singoli componenti dopo la separazione e non sul peso iniziale del campione di analisi; ma tale somma deve essere confrontata con il peso originario per controllare un'eventuale perdita di materiale o altri errori.

Il risultato finale è rappresentato, per ogni componente, dalla media dei valori delle due ripetizioni.

Per valutare l'esattezza della prova si deve verificare se la differenza tra i risultati delle analisi dei due sottocampioni eccede o meno la tolleranza ammessa. La verifica deve riguardare tutte e tre le parti componenti. Allo scopo si utilizza la tabella 1.

Se la differenza rientra nei limiti di tolleranza (3), per tutte le frazioni, la prova è da ritenersi valida, diversamente occorre ripetere l'analisi finché le differenze non rientrino nei limiti.

---

(3) Per esempio, i risultati dell'analisi in doppio di un seme di Trifoglio incarnato siano i seguenti:

	1° campione		2° campione		Risultato finale % media
	g	%	g	%	
Seme puro	4,941	98,62	5,342	97,10	97,9
Semi estranei	0,042	0,84	0,110	2,00	1,4
Materie inerti	0,027	0,54	0,050	0,90	0,7
Totali	5,010		5,502		

Per verificare l'attendibilità dei due dati relativi al seme puro, ottenuti dalla analisi, si fa riferimento alla colonna A della tabella 1 in corrispondenza dei valori 97,75-97,99 fra i quali è compresa la percentuale 97,9 risultato finale dell'analisi stessa. La differenza massima che si legge nella colonna B della stessa tabella è di 1,54 ed è maggiore della differenza (98,62 — 97,10 = 1,52) esistente fra le due percentuali di seme puro. Tale verifica si ripete per i semi estranei e per le materie inerti, accertando l'attendibilità dei risultati ottenuti. Infatti le differenze massime ammesse nella colonna B della stessa tabella sono rispettivamente 1,26 per i semi estranei (maggiore di 2,00 — 0,84 = 1,16) e di 0,95 per le materie inerti (maggiore di 0,90 — 0,54 = 0,36). Pertanto i dati forniti dall'analisi in doppio sono attendibili e il risultato finale è il seguente: Seme puro 97,9%; semi estranei 1,4%; materie inerti 0,7%.

TABELLA 1.

DIFFERENZE MASSIME AMMESSE FRA I RISULTATI DELLE DUE PROVE PARALLELE DI ANALISI VALEVOLI PER QUALSIASI DATO DELL'ANALISI DELLA PUREZZA

Classi di percentuali medie (*A*)			Differenze massime ammesse fra le percentuali relative alle due prove (*B*)
99,95-100,0	oppure	0,00- 0,04	0,23
99,90-99,94	»	0,05- 0,09	0,34
99,85-99,89	»	0,10- 0,14	0,42
99,80-99,84	»	0,15- 0,19	0,49
99,75-99,79	»	0,20- 0,24	0,55
99,70-99,74	»	0,25- 0,29	0,59
99,60-99,64	»	0,35- 0,39	0,69
99,55-99,59	»	0,40- 0,44	0,74
99,50-99,54	»	0,45- 0,49	0,76
99,40-99,49	»	0,50- 0,59	0,82
99,30-99,39	»	0,60- 0,69	0,89
99,20-99,29	»	0,70- 0,79	0,95
99,10-99,19	»	0,80- 0,89	1,00
99,00-99,09	»	0,90- 0,99	1,06
98,75-99,99	»	1,00- 1,24	1,15
98,50-98,74	»	1,25- 1,49	1,26
98,25-98,49	»	1,50- 1,74	1,37
98,00-98,24	»	1,75- 1,99	1,47
97,75-97,99	»	2,00- 2,24	1,54
97,50-97,74	»	2,25- 2,49	1,63
97,25-97,49	»	2,50- 2,74	1,70
97,00-97,24	»	2,75- 2,99	1,78
96,50-96,99	»	3,00- 3,49	1,88
96,00-96,49	»	3,50- 3,99	1,99
95,50-95,99	»	4,00- 4,49	2,12
95,00-95,49	»	4,50- 4,99	2,22
94,00-94,99	»	5,00- 5,99	2,38
93,00-93,99	»	6,00- 6,99	2,56
92,00-92,99	»	7,00- 7,99	2,73
91,00-91,99	»	8,00- 8,99	2,90
90,00-90,99	»	9,00- 9,99	3,04
88,00-89,99	»	10,00-11,99	3,25
86,00-87,99	»	12,00-13,99	3,49
84,00-85,99	»	14,00-15,99	3,70
82,00-83,99	»	16,00-17,99	3,90
80,00-81,99	»	18,00-19,99	4,07
78,00-79,99	»	20,00-21,99	4,23
76,00-77,99	»	22,00-23,99	4,37
74,00-75,99	»	24,00-25,99	4,50
72,00-73,99	»	26,00-27,99	4,61
70,00-71,99	»	28,00-29,99	4,71
65,00-69,99	»	30,00-34,99	4,86
60,00-64,99	»	35,00-39,99	5,02
50,00-59,99	»	40,00-49,99	5,16

3.7.2. *Espressione del risultato.*

Nel certificato di analisi il risultato della determinazione della purezza deve essere indicato, per ciascuna delle parti (seme puro, semi estranei e materie inerti) in percentuale del peso totale di esse. Tali percentuali si calcolano alla seconda cifra decimale e si indicano soltanto con la prima arrotondata; i cinque centesimi si arrotondano per eccesso. I valori inferiori a 0,05 si esprimono come «Tracce» (Tr.). Se il risultato di un componente è zero, esso si dovrà indicare, nell'apposito spazio, come segue: «-0,0-». Nel caso di miscugli, il risultato dell'analisi di purezza si riferisce al miscuglio nel suo complesso. Inoltre, per tutte le specie, che sono state dichiarate componenti di miscuglio, si deve indicare il nome botanico e volgare, e per ciascuna di esse, la percentuale di seme puro riferita al totale dei pesi di tutte le parti dell'analisi della purezza del miscuglio

Nel certificato di analisi, per quanto è possibile, si devono indicare i nomi botanici delle specie di semi estranei rinvenuti. Inoltre, se tra questi semi vi è una specie presente in misura pari o superiore all'1%, tale percentuale deve essere indicata a fianco del nome botanico. Quando, fra le materie inerti, si riscontrino agenti patogeni (sclerozi, galle, larve ecc.), se ne dovrà fare menzione nel certificato d'analisi.

Quando viene trovato nell'analisi un genere particolare di materie inerti o specie di altri semi, o quando il contenuto in unità seminali multiple nei generi *Dactylis, Festuca,* è superiore all'1% o quando a richiesta di chi invia il campione di analisi venga rinvenuta una specie per più dello 0,1%, la percentuale di tali materiali può essere indicata sul certificato di analisi.

4° — DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI SEMI ESTRANEI

4.1. SCOPO.

Scopo dell'analisi è di determinare il numero di semi estranei (sez. 3.3.2.). Tale determinazione può riferirsi ad una sola o più specie, o a tutte le specie presenti, e ciò in relazione a prescrizioni legislative o ad esigenze commerciali.

4.2. PESO MINIMO DEL CAMPIONE DI ANALISI.

Il peso minimo del campione di analisi è quello indicato nella colonna 6 delle tabelle dell'allegato I. Esso deve consentire comunque di analizzare almeno 25.000 semi. Nel caso di miscugli, per la formazione del campione di analisi valgono le stesse norme indicate per l'analisi della purezza (sez. 3.2.c). Nel caso tuttavia in cui le norme legislative e regolamentari prescrivano l'assenza o la limitazione di determinate specie infestanti riferita ad un determinato peso, il peso del campione di analisi non dovrà essere inferiore a quello indicato dalle norme stesse.

4.3. PROCEDURA.

L'analisi deve essere fatta in due ripetizioni ed il peso di ciascun sottocampione non deve essere inferiore alla metà del peso complessivo del campione di analisi (sez. 4.2.).

L'analisi si effettua a mano separando dal campione tutti i semi della specie o delle specie per le quali è richiesta la determinazione. È concesso l'uso di setacci ed altre attrezzature come per l'analisi di purezza.

Per la ricerca dei semi estranei di *Cuscuta spp.* è ammesso anche l'uso della decuscutatrice elettromagnetica.

Per la *Cuscuta spp.* si deve inoltre effettuare la separazione dei semi, rinvenuti nel campione, in due frazioni: *a) Cuscuta piccola* i semi che passano attraverso vagli con fori del diametro di 1 mm, *b) Cuscuta grossa* i semi di dimensioni superiori a 1 mm.

4 4. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

Di ciascuna specie ricercata si effettua il conteggio dei semi rinvenuti in ciascun sottocampione. Si verifica quindi la validità dell'analisi con il calcolo della tolleranza fra le due ripetizioni mediante l'uso della tabella 2. Se la differenza riscontrata fra le due stime supera quella indicata nella colonna *B* della tabella si deve ripetere l'analisi finché si rientra nei limiti.

Il risultato finale dell'analisi è dato dalla somma del numero di semi di ciascuna specie trovato nelle due ripetizioni riferito alla somma dei pesi dei due sottocampioni di analisi.

Il risultato viene espresso sul certificato indicando: *a)* il peso effettivo del campione analizzato, *b)* il nome botanico del genere e, ove possibile, della specie ricercata e trovata e il corrispondente numero di semi.

Se la ricerca di qualche specie, espressamente richiesta, ha dato esito negativo, si deve ugualmente indicare sul certificato il risultato come segue: «Nome della specie: -0- semi» oltre naturalmente al peso del campione analizzato.

TABELLA 2.

DIFFERENZE MASSIME AMMESSE TRA LE DUE PROVE DELLA DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI SEMI ESTRANEI PER CAMPIONI DI ANALISI DEL MEDESIMO PESO

Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)	Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)	Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)
	5	76-81	25	253-264	45
	6	82-88	26	265-276	46
5-6	7	89-95	27	277-288	47
7-8	8	96-102	28	289-300	48
9-10	9	103-110	29	301-313	49
11-13	10	111-117	30	314-326	50
14-15	11	118-125	31	327-339	51
16-18	12	126-133	32	340-353	52
19-22	13	134-142	33	354-366	53
23-25	14	143-151	34	367-380	54
26-29	15	152-160	35	381-394	55
30-33	16	161-169	36	395-409	56
34-37	17	170-178	37	410-424	57
38-42	18	179-188	38	425-439	58
43-47	19	189-198	39	440-454	59
48-52	20	199-209	40	455-469	60
53-57	21	210-219	41	470-485	61
58-63	22	220-230	42	486-501	62
64-69	23	231-241	43	502-518	63
70-75	24	242-252	44	519-534	64

5° — ANALISI DI GERMINABILITÀ

5.1. SCOPO.

Scopo della prova di germinazione in laboratorio è di determinare la percentuale di seme puro capace di produrre germinelli normali: cioè plantule che dal loro sviluppo e comportamento nella prova stessa fanno prevedere di svilupparsi in piante normali in condizioni favorevoli di coltura.

Le condizioni di germinazione descritte nel presente capitolo sono standardizzate in modo che i risultati di analisi, per uno stesso campione, possano essere riproducibili e fra loro comparabili.

5.2. CATEGORIE DI SEMI E LORO DEFINIZIONI.

Le categorie nelle quali si distinguono i semi in base alla prova di germinazione sono le seguenti:

1) semi germinati con germinelli normali;

2) semi duri;

3) semi freschi non germinati;

4) semi con germinelli anormali;

5) semi morti o vani.

5.2.1. *Semi germinati con germinelli normali.*

Sono ritenuti germinelli normali quelli provvisti degli organi essenziali alla vita della pianta armonicamente sviluppati:

A — Essi devono pertanto possedere le seguenti strutture:

a) sistema radicale ben sviluppato, comprendente la radice primaria, ad eccezione delle specie che normalmente producono diverse radici seminali delle quali ne debbono essere presenti almeno due di normale sviluppo o una di notevole vigore;

b) ipocotile ben sviluppato ed intatto;

c) epicotile intatto con piumetta o con foglia interna ben sviluppata;

d) cotiledoni intatti;

e) nelle graminaceae una foglia primaria ben sviluppata internamente od anche emergente dal coleoptile.

B Si considerano normali anche i germinelli che mostrano sviluppo vigoroso e ben equilibrato negli organi essenziali pur presentando leggeri difetti, quali ad esempio:

a) mancanza di radice primaria, ma presenza di due o più radici secondarie di lunghezza e vigore sufficienti a sostenere la pianta nel terreno;

b) lesioni superficiali negli organi essenziali, purché di superficie limitata e non interessanti i tessuti conduttori;

c) mancanza di un cotiledone nelle dicotiledoni;

d) germinelli danneggiati da funghi e batteri, purché sia chiaramente evidente che il seme stesso non è la sorgente di infezione e possa essere accertata la presenza delle strutture essenziali.

C — Nei semi di specie forestali a germinazione epigea si considerano normali i germinelli aventi radice e ipocotile di lunghezza pari, insieme, ad almeno 4 volte la lunghezza del seme purché tutti gli organi già sviluppati siano di aspetto normale.

5.2.2. *Semi duri.*

Sono i semi che, al termine della prova di germinazione, per l'impermeabilità dei loro rivestimenti, non sono germinati né si sono rigonfiati, rimanendo duri.

Semi di questo tipo sono frequenti nelle leguminose e in altre famiglie o generi come ad esempio *Gossypium* e *Hibiscus.*

5.2.3. *Semi freschi non germinati.*

Sono i semi, ad eccezione di quelli duri, che anche dopo i trattamenti contro la dormienza (sez. 5.5.2.) rimangono, al termine della prova di germinazione, intatti ed apparentemente vitali né manifestano marcescenza o ammuffimento.

5.2.4. *Semi con germinelli anormali* (4).

Semi che, pur essendo germinati, non presentano germinelli tali da poter essere considerati normali ai termini della sezione 5.2.1. e, in particolare, ad esempio:

a) germinelli danneggiati: senza cotiledoni, con strozzature, rotture, fessure, lesioni nelle strutture essenziali profonde ed estese; germinelli senza radice primaria per quelle specie per le quali essa è una struttura essenziale, fatta eccezione per le specie di Leguminosae a seme grosso, per *Zea mays* e per le specie di *Malvaceae e Cucurbitaceae,* quando vi siano numerose e vigorose radici laterali e avventizie;

(4) Per una più particolareggiata descrizione e valutazione dei germinelli anormali, si suggerisce la consultazione dei testi specializzati editi dall'I.S.T.A. (International Seed Testing Association).

b) germinelli deformati: germinelli con uno sviluppo debole e non equilibrato delle strutture essenziali come piumetta, epicotile ed ipocotile spiralato o tronco; fusticino rigonfio e radici interrotte nello sviluppo; piumette fessurate; coleoptile senza foglioline primarie; germinelli acquosi e vitrei o senza ulteriore sviluppo dopo la comparsa dei cotiledoni;

c) germinelli deteriorati: germinelli con strutture essenziali così ammalate o deteriorate da pregiudicare un normale sviluppo, a meno che sia chiaramente evidente che la causa dell'infezione non sia nel seme stesso.

5.2.5. *Semi morti o vani.*

Sono i semi che al termine della prova di germinazione non hanno prodotto germinelli e non possono essere considerati come semi duri o semi freschi non germinati.

5.3. ATTREZZATURE.

5.3.1. *Substrato:*

a) Carta da filtro:

La carta da filtro deve essere resistente alla rottura, avere adeguato spessore (0,25 mm), elevata capacità di assorbimento (una striscia della larghezza di 10 mm sospesa verticalmente con il lembo inferiore immerso in acqua per 20 mm, l'acqua deve risalire in 2 minuti per non meno di 30 mm), un contenuto di ceneri non superiore al 2%, deve essere esente da sostanze chimiche dannose alla germinazione; deve avere un pH = 6,5-7,5 ed essere sterilizzata.

b) Sabbia:

La sabbia silicea deve essere formata da particelle di diametro compreso tra 0,05 e 0,8 mm. Deve inoltre essere chimicamente e biologicamente inerte, priva di sostanze tossiche, avere pH = 6,5-7,5 ed essere sterilizzata.

5.3.2. *Germinatoi, armadi e camere di germinazione:*

A — I germinatoi hanno la funzione di mantenere il grado di umidità del substrato il più costante possibile. Essi possono essere:

a) recipienti di vetro (tipo capsule Petri) provvisti di coperchio quando si usa come substrato la carta da filtro;

b) recipienti di altro tipo, materiale, forma e dimensioni opportune, in relazione anche alle dimensioni del seme da porre in germinazione, quando si usa come substrato la sabbia;

c) apparecchi speciali del tipo Jacobsen che sono particolarmente indicati per le specie a seme minuto e per le specie arboree ed arbustive.

B — Armadi o camere di germinazione.

Sono armadi o camere nelle quali vengono realizzate le condizioni ambientali necessarie per la germinazione dei semi. Essi devono rispondere ai seguenti requisiti:

a) essere forniti di termostato regolatore con una oscillazione massima di ± 1°C e di consentire, nei casi di alternanza di temperatura, di raggiungere le temperature prescritte nel termine massimo di due ore;

b) essere provvisti di umidostato o altro mezzo atto ad ottenere un grado igrometrico del 90-95%;

c) avere la possibilità di ottenere, per le prove che richiedono la luce, una illuminazione di intensità regolabile tra 250 e 1.250 lux.

C — Germinatoi Jacobsen.

Questi apparecchi consistono in piastre di germinazione sulle quali sono posti i dischi di carta da filtro, con i semi, i quali assorbono continuamente umidità mediante stoppini o strisce di carta da filtro che, attraverso fori o fessure, raggiungono l'acqua del recipiente sottostante.

Ogni disco di carta da filtro serve per una ripetizione e viene coperto con una campana di vetro o di plastica per conservare un elevato grado igrometrico; la campana è poi provvista di un forellino per aereazione.

La temperatura necessaria per la germinazione è ottenuta o direttamente riscaldando la piastra di germinazione o indirettamente riscaldando l'acqua del germinatoio. In ogni caso la temperatura deve essere misurata a livello dei semi sotto la campana.

5.4. CAMPIONE DI ANALISI:

a) L'analisi di germinazione deve essere eseguita su 400 semi presi dalla frazione di seme puro dell'analisi di purezza eseguita secondo le prescrizioni del cap. 3°. Allo scopo si uniscono e si mescolano i semi puri dei due sottocampioni dell'analisi di purezza e si contano 4 ripetizioni di 100 semi ciascuna da porre nei germinatoi.

b) Quando è richiesta soltanto la prova di germinazione si prelevano 2 sottocampioni di analisi con le stesse modalità indicate nella sezione 1.4. e di peso non superiore a quello indicato per l'analisi di purezza (colonna 5 dell'allegato I). Si effettua la separazione dei semi puri dai semi estranei e dalle impurità inerti con le stesse modalità indicate nella sezione 3.3.1. fino a contare 400 semi puri che si dividono poi in 4 ripetizioni di 100 semi ciascuno.

c) Quando le dimensioni dei semi non consentono una sufficiente spaziatura nei germinatoi, ogni ripetizione puo essere suddivisa in 2 sottoripetizioni di 50 semi ciascuna o in 4 di 25 semi ciascuna.

d) Per le specie che sono percentualmente poco rappresentate nei *miscugli* può accadere di non trovare tra i semi puri dei due sottocampioni dell'analisi della purezza i 400 semi necessari per la prova di germinazione. In questo caso si dovranno separare anche dalla rimanenza del campione medio di prelevamento tanti semi puri fino ad ottenere il numero di semi prescritto. Nel caso che tale numero non venga raggiunto, la prova di germinazione è effettuata sulla totalità dei semi ottenuti, suddivisi in 4 ripetizioni uguali; in questo caso sul certificato di analisi deve essere indicato il numero effettivo di semi sottoposto alla prova.

5.5. ESECUZIONE DELL'ANALISI

I semi devono essere disposti nel germinatoio in modo da evitare il contatto reciproco dei germinelli e devono essere posti nelle condizioni di germinazione generali e particolari prescritte (allegato II).

I semi devono essere sottoposti in germinazione nello stato in cui pervengono al laboratorio, senza sottoporli a nessun pretrattamento eccetto quelli prescritti nella sezione 5.5.2.

Si possono effettuare analisi supplementari con determinati pretrattamenti non previsti nelle presenti regole: in questo caso, oltre al risultato si deve indicare il tipo di pretrattamento effettuato.

5.5.1. *Condizioni generali:*

A — *Substrato.*

Il substrato o letto di germinazione, deve essere di natura tale da assorbire acqua e cederla poi ai semi nella quantità ad essi necessaria per germinare. Per ogni tipo di seme deve essere usato un adeguato tipo di substrato. Questi sono indicati nella col. 2 delle tabelle dell'allegato II.

a) Carta da filtro.

Può essere usata nei seguenti modi:

C (su carta da filtro). I semi sono messi a germinare su uno o più dischi di carta da filtro posti in scatole Petri o di altro tipo, o nei germinatoi Jacobsen (sez. 5.3.2.);

TC (tra carta da filtro). I semi sono messi a germinare tra due dischi o strati di carta da filtro posti in germinatoi come sopra;

CP (carta da filtro pieghettata). I semi sono messi a germinare fra le pieghe di una striscia di carta da filtro lunga 200 cm, larga 11 cm. Ogni striscia porta 50 pieghe alte 2 cm. Disposti i semi, il tutto viene avvolto in un'altra striscia di carta da filtro lunga 58 cm e larga 11 cm e posto in germinatoio di plastica, vetro o altro materiale, muniti di un coperchio trasparente o coperti con una lastra di vetro. La carta pieghettata deve avere un peso di 100-200 g per m^2 ed un potere assorbente di acqua del 220-240%. La striscia avvolgente deve pesare 60 g per m^2 ed avere potere assorbente di acqua del 220-240%.

Talvolta la carta da filtro può essere posta anche su uno strato di cotone o di gommapiuma al fine di meglio conservare l'umidità.

b) Sabbia.

Puo essere usata come segue:

S (in sabbia). I semi sono messi su uno strato uniforme di sabbia umida e coperti con un altro strato di 10-20 mm di sabbia che è lasciata soffice;

SS (su sabbia). I semi sono messi e leggermente pressati su uno strato uniforme di sabbia umida.

B — *Umidità.*

Per tutta la durata della prova il substrato deve contenere un grado di umidità sufficiente per la germinazione dei semi e non deve mai essere in eccesso.

Tre sono i gradi di umidità raccomandati: elevato (e), medio (m), scarso (s). Nella colonna 3 delle tabelle dell'allegato II sono indicati, per ciascuna specie e per il relativo substrato, i gradi di umidità da mantenere per la prova di germinazione.

Per la *carta da filtro* il grado elevato di umidità si ottiene immergendo il disco o il foglio completamente in acqua e disponendolo subito, senza sgocciolarlo, sul fondo del germinatoio; il grado medio di umidità si ottiene immergendo completamente il disco o il foglio nell'acqua contenuta in una vaschetta, indi si estrae strisciando lungo la parete del recipiente per eliminare l'eccesso di acqua prima di disporlo sul fondo del germinatoio; il grado scarso si ottiene immergendo il disco o il foglio a metà nell'acqua e disponendolo senza sgocciolarlo sul fondo del germinatoio.

Per la *sabbia* i tre livelli di umidità corrispondono al 60% (elevato), 50% (medio), 40% (scarso) della capacità idrica di ritenuta della sabbia usata.

Il grado di umidità del substrato deve essere mantenuto costante per tutta la durata della prova; bisogna quindi controllarlo frequentemente e ripristinarlo, se necessario, con successive aggiunte di acqua.

C — *Temperatura.*

Le temperature prescritte per ogni specie di seme sono indicate nella col. 4 delle tabelle dell'allegato II e devono essere uniformi in tutto l'ambiente di germinazione (armadi termostatici, camere di germinazione, ecc.).

Le temperature possono essere:

a) costanti durante le 24 ore giornaliere: esse sono indicate con un solo numero;

b) alternate nelle 24 ore giornaliere: esse sono indicate con due numeri separati da una lineetta. In questo caso la temperatura più alta viene usata per 8 ore giornaliere e la più bassa per le rimanenti 16 ore. Nei giorni in cui non è possibile attuare l'alternanza di temperatura le prove vanno tenute costantemente alle temperature più basse.

D — *Luce.*

Le specie che, per germinare, richiedono la luce, devono essere poste in ambienti con luce naturale o artificiale.

Nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato II sono contraddistinte con una L le specie per le quali è prescritta la luce. Si raccomanda in proposito l'uso di lampade a luce bianca e fredda. I semi devono essere esposti alla luce per almeno 8 ore al giorno e in concomitanza con la temperatura più alta per le specie che richiedono l'alternanza di temperatura.

L'intensità della luce deve essere di circa 750-1.250 lux; per i semi non dormienti può essere sufficiente anche una intensità di 250 lux.

5.5.2. *Trattamenti speciali per interrompere la dormienza dei semi:*

Quando, al termine dell'analisi, rimangono semi freschi o dormienti, ossia non germinati, né marciti o ammuffiti, occorre ripetere la prova adottando uno o più dei seguenti trattamenti speciali, come indicato nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

L'impiego di questi trattamenti speciali deve essere indicato sul certificato di analisi:

a) Prerefrigerazione.

Essa consiste nell'esporre preventivamente i semi, già posti sul substrato umido, alle temperature e per i periodi di tempo indicati per ciascuna specie nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

I giorni della prerefrigerazione non devono essere conteggiati ai fini della durata della prova. Talvolta può anche essere necessario prolungare il periodo di prerefrigerazione o refrigerare di nuovo dopo il primo conteggio dei semi germinati.

b) Nitrato potassico (KNO_3).

All'inizio della prova il grado di umidità richiesto viene raggiunto inumidendo il substrato con una soluzione di nitrato potassico allo 0,2% di acqua distillata. Per le aggiunte successive, necessarie al ripristino dell'umidità, si impiega acqua normale.

c) Acido gibberellico (GA_3).

Il substrato di germinazione è inumidito con una soluzione di GA_3 a 500 ppm, preparato sciogliendo 500 mg di GA_3 in un litro di acqua. Quando la dormienza è più debole la concentrazione può essere limitata a 200 ppm; quando essa è più accentuata la concentrazione può arrivare a 1000 ppm.

Se la concentrazione supera 800 ppm, si può sostituire l'acqua con una soluzione tampone 0,01M: preparata sciogliendo 1,7799 g di Na_2HPO_4 e 1,3799 g di $NaH_2PO_4.H_2O$ in un litro di acqua distillata.

d) Prova a temperatura più bassa o ad alternanza di temperatura.

Talvolta può essere necessario ripetere la prova ad una temperatura più bassa di quella normalmente prescritta oppure a due temperature alternate. Queste sono indicate nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II. Se a temperatura più bassa, il processo germinativo si svolge più lentamente e la durata della prova può quindi essere prolungata di 5-6 giorni.

e) Prelavaggio.

Quando i semi contengono sostanze che inibiscono la germinazione è necessario rimuoverle immergendo e lavando i semi in acqua alla temperatura di 20-25°C per i tempi indicati nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

f) Preessiccamento.

Prima di essere posti nelle condizioni prescritte per la germinazione, i semi delle ripetizioni sono tenuti ad una temperatura non superiore a 40°C con libera circolazione di aria e per un periodo massimo di 7 giorni. In alcuni casi può essere necessario prolungare la durata del preessiccamento.

Sul certificato d'analisi dovrà essere indicata, oltre alla temperatura, anche la durata del trattamento.

5.5.3. *Durata dell'analisi.*

I giorni prescritti per l'analisi sono indicati nelle colonne 6 e 7 delle tabelle dell'allegato II.

Quando i semi sono sottoposti a refrigerazione, i giorni richiesti per il trattamento sono esclusi dal conteggio dei giorni prescritti per l'analisi.

Se al termine del periodo di analisi alcuni semi hanno appena iniziato la germinazione, l'analisi può essere prolungata per altri sette giorni al massimo.

L'analisi può essere conclusa anche prima del termine prescritto quando l'analista ritiene che nessun altro seme, fra quelli rimasti, sia suscettibile di germinare ulteriormente.

I giorni indicati per il primo conteggio possono subire variazioni a discrezione dell'analista; l'importante è che i germinelli abbiano raggiunto uno stadio di sviluppo tale da poter consentire una corretta osservazione e valutazione delle loro strutture essenziali.

Possono essere fatti anche conteggi intermedi per asportare i germinelli che hanno raggiunto un sufficiente stadio di sviluppo, ma il loro numero deve essere ridotto al minimo per evitare danni ai germinelli in incipiente sviluppo.

In certi casi, ad es. prova in sabbia (S), può essere conveniente eseguire solo il conteggio finale.

Quando, al termine della prova, rimangono nel germinatoio semi non germinati ma ancora sani pertanto non marciti né ammuffiti, la prova stessa va ripetuta impiegando uno dei trattamenti indicati nella sezione 5.5.2.

Se le sementi arboree ed arbustive al termine della prova presentano ancora semi dormienti si deve o prolungare la durata della prova, o sezionare il seme ed osservare lo stato dell'embrione e dei tessuti circostanti o ricorrere alla prova biochimica al tetrazolo (cap. 6°).

Il numero effettivo di giorni impiegato per giungere al risultato finale deve essere indicato nel certificato di analisi.

5.5.4. *Valutazione dei semi germinati e non germinati.*

Per un'esatta determinazione della percentuale della germinabilità è necessario valutare attentamente i semi in prova ricordando le definizioni date alla sezione 5.2.

Nel corso del primo conteggio e di quelli intermedi (sez. 5.5.3.) devono essere rimossi solo i semi che hanno dato germinelli normali e quelli evidentemente morti e ammuffiti che possono essere fonte di contaminazione per quelli sani. Una esatta valutazione dei semi germinati può essere fatta solo quando i germinelli hanno raggiunto uno stadio di sviluppo sufficiente per accertare se posseggono i requisiti necessari per essere considerati normali. Talvolta è necessario rimuovere il tegumento del seme per esaminare la piumetta ed i cotiledoni che, al momento del conteggio finale, vi fossero inclusi. In particolare, l'esame dei cotiledoni in alcune specie (per es. *Phaseolus*), deve essere fatto previo divaricamento degli stessi, quando siano ancora a contatto fra loro, per controllare eventuali manifestazioni di necrosi interne e le condizioni della piumetta.

I campioni trattati chimicamente che presentano anomalie dei germinelli per probabile fitotossicità, vanno riesaminati ove è possibile ripetendo la prova su sabbia sterile.

Le strutture a semi multipli (ad esempio semi polispermi, glomeroli di barbabietola e spighette conglomerate di graminacee) comprese nella frazione del seme puro (sez. 3.3.1.) devono essere considerate, ai fini dell'analisi di germinabilità, come singoli semi. Il risultato dell'analisi indica la percentuale di strutture che hanno prodotto almeno un germinello normale.

Un seme di pianta forestale che produce più germinelli per effetto della poliembrionia deve essere contato come un singolo seme. Quando i semi a più embrioni superano il 5% si deve indicare la percentuale esatta sul certificato d'analisi.

Per le specie con strutture a seme multiplo, qualora sia richiesta anche la determinazione del grado di germia (es. barbabietole), nell'analisi di germinazione si deve adottare un metodo (es. CP) che consenta, per il sufficiente distanziamento delle strutture seminali, il conteggio di tutti i germinelli da esse prodotti.

Si determina così il numero di strutture che hanno prodotto uno, due o più germinelli normali e di ciascun gruppo viene indicata la percentuale sul numero complessivo di strutture germinate.

5.6. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

5.6.1. *Calcolo del risultato.*

Il risultato dell'analisi di germinabilità è dato dal valore medio dei risultati ottenuti dalle quattro ripetizioni (sez. 5.4.a.).

Nel caso in cui si devono eseguire più sottoripetizioni (sez. 5.4.c.), queste si raggruppano in modo da ottenere le 4 ripetizioni di 100 semi ciascuna.

Si verifica poi l'attendibilità della prova usando la tabella 3.

Quando la differenza fra il risultato più elevato e quello più basso delle quattro ripetizioni, rispetto al loro valore medio, rientra nei limiti indicati nella colonna 3 della tabella suddetta, la prova risulta statisticamente valida e la media dei risultati delle quattro ripetizioni rappresenta il valore definitivo che deve essere riportato sul certificato di analisi.

Il risulato non è considerato valido e le prove devono essere ripetute quando:

a) le differenze fra le ripetizioni escono dai limiti di tolleranza indicati nella tabella 3;

b) quando è evidente che i risultati non sono soddisfacenti a causa di errate condizioni di analisi, intervenute anche per brevi periodi, o di errate valutazioni dei germinelli o di altri fattori accidentali;

c) quando è evidente che il risultato non può essere accettabile a causa di dormienza dei semi, di fitotossicità o di diffusione di funghi e batteri.

Nel caso di ripetizione dell'analisi, se il secondo risultato è compatibile con il primo, la media di entrambe le analisi rappresenta il risultato definitivo che deve essere riportato sul certificato.

I due risultati sono fra loro compatibili se la loro differenza, rispetto alla loro media, rientra nei limiti di tolleranza prescritti nella colonna 3 della tabella 4. Nel caso di incompatibilità si deve fare un'altra analisi e tenere valido, come risultato definitivo, la media fra i due compatibili.

TABELLA 3

TOLLERANZE MASSIME AMMESSE FRA LA PERCENTUALE DI GERMINAZIONE PIÙ ALTA E QUELLA PIÙ BASSA, DI QUALSIASI CATEGORIA DI SEMI OTTENUTE NELLE QUATTRO RIPETIZIONI DELLA PROVA DI GERMINAZIONE

Percentuale media di germinazione		Tolleranza massima	Percentuale media di germinazione		Tolleranza massima
1	2	3	1	2	3
99	2	5	87-88	13-14	13
98	3	6	84-86	15-17	14
97	4	7	81-83	18-20	15
96	5	8	78-80	21-23	16
95	6	9	73-77	24-28	17
93-94	7-8	10	67-72	29-34	18
91-92	9-10	11	56-66	35-45	19
89-90	11-12	12	51-55	46-50	20

TABELLA 4

TOLLERANZE MASSIME AMMESSE NELLE DIFFERENZE DI RISULTATI FRA DUE ANALISI ESEGUITE SULLO STESSO CAMPIONE

Percentuale media di germinazione		Tolleranza	Percentuale media di germinazione		Tolleranza
1	2	3	1	2	3
98-99	2-3	2	77-84	17-24	6
95-97	4-6	3	60-76	25-41	7
91-94	7-10	4	51-59	42-50	8
85-90	11-16	5			

5.6.2. *Espressione del risultato.*

Il risultato dell'analisi di germinazione deve essere espresso indicando sul certificato di analisi la durata effettiva della prova (in giorni), escludendo dal conteggio i giorni richiesti per eventuali pretrattamenti, nonché il dato percentuale dei germinelli normali, dei germinelli anormali, dei semi duri, dei semi freschi non germinati e dei semi morti. Dette percentuali devono essere espresse da numeri interi, arrotondando per eccesso i decimali uguali o superiori a 0,5 e per difetto quelli inferiori.

Nel caso di miscugli, accanto al nome botanico di ciascuna specie, che è stata dichiarata come componente del miscuglio, si deve indicare la corrispondente percentuale di semi germinati con germinelli normali e, per le specie che ne contengono, la percentuale di semi duri. Quando la prova è stata eseguita su un numero di semi minore di 400 (sez. 5.4.d.) questo numero dovrà essere precisato nel certificato di analisi.

Quando sia necessario ricorrere a trattamenti speciali (sez. 5.5.2.) bisogna indicare nel certificato di analisi i trattamenti effettuati.

Nel caso di semi forestali si deve riportare sul certificato di analisi, la percentuale di semi vani.

6° — DETERMINAZIONE DELLA VITALITÀ DEL SEME CON SAGGIO BIOCHIMICO

(Prova al Tetrazolo)

Questa determinazione (5) ha per scopo la stima della vitalità dei semi di alcune specie arbustive ed arboree che germinano troppo lentamente, (oltre 2 mesi incluso il periodo di prerefrigerazione) quando vengono analizzate con le normali prove di germinazione, o che presentano, al termine della prova di germinazione, semi dormienti di cui si deve determinare la vitalità (sez. 5.5.2.).

Le specie per le quali è ammessa questa determinazione sono: *Acer* spp., *Carpinus* spp., *Celtis australis, Chamaecyparis thyoides, Cornus mas e C. sanguinea, Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Elaeagnus angustifolia, Evonymus Europaea, Fagus sylvatica, Fraxinus* spp., *Juniperus* spp., *Libocedrus decurrens, Ligustrum vulgare, Liriodendron tulipifera, Malus* spp., *Ostrya* spp., *Pinus* spp., *Prunus* spp., *Pyrus* spp., *Rosa* spp., *Sorbus* spp., *Taxodium disticum, Taxus* spp. e *Tilia* spp.

6.1. CAMPIONE D'ANALISI.

La prova viene eseguita su 4 ripetizioni di 100 semi (o frutti) puri ciascuna, prelevate secondo le direttive date per l'analisi della germinabilità (sez. 5.4.).

6.2. ESECUZIONE DELL'ANALISI.

6.2.1. *Direttive generali.*

Per questa determinazione si impiega una soluzione acquosa all'1% di 2,3,5,-trifenil-tetrazolo-cloruro. I semi di ciascuna delle 4 ripetizioni devono venire immersi nella soluzione al tetrazolo e conservati al buio alla temperatura di 30°C ± 1, a meno che non si tratti di specie per le quali le direttive particolari prevedano un grado di temperatura diverso, e per un periodo di tempo variabile a seconda della specie (sez. 6.2.2.).

Terminato il trattamento al tetrazolo, la soluzione viene decantata ed i semi vengono risciacquati con acqua per procedere poi all'esame della colorazione assunta dall'embrione e dall'endosperma.

Per questo esame è necessario stendere i semi di ciascuna ripetizione su una piastra, per metà bianca e per metà nera e mantenerli umidi durante il corso dell'operazione.

6.2.2. *Direttive particolari.*

Oltre alle direttive generali testé descritte ve ne sono altre, particolari, per ciascuna delle specie sottoindicate, che precisano le tecniche da seguire e i criteri di valutazione dei risultati:

a) Acer spp.

Si rimuove dal seme il pericarpo con l'ala. I semi vengono quindi tenuti in acqua per 18-20 ore, quando il seme è secco si consiglia un trattamento di prerefrigerazione a 3-5°C per sette giorni. Si libera l'embrione dalla pellicola servendosi di una lancetta per dissezione. Con un bisturi sottile si tagliano 0,5 mm della punta della radichetta e dei cotiledoni dalla parte opposta alla radichetta. I semi così preparati si immergono nella soluzione al tetrazolo per 24 ore. Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta; se questo non oltrepassa la metà della lunghezza della radichetta;

3) embrione con macchie incolori sulla metà dei cotiledoni opposta alla radichetta;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche indicate in 2 e 3.

b) Carpinus spp. e Ostrya spp.

---

(5) Il saggio biochimico si basa sui processi di riduzione che avvengono nei tessuti viventi del seme a carico di un indicatore, il 2,3,5,trifeniltetrazolo-cloruro o bromuro, che, per idrogenazione, dà origine ad una sostanza, il trifenil formazano, rossa, stabile e non diffusibile; ciò permette di distinguere le parti vitali, colorate in rosso, da quelle non vitali, senza colore. La posizione e la proporzione delle aree necrotiche dell'embrione e dell'endosperma permettono la determinazione della vitalità del seme. Per questi motivi il metodo è anche chiamato Metodo Topografico al Tetrazolo.

Si devono tenere i frutti in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di piccole e robuste cesoie si rimuove il terzo inferiore dell'achenio, cioè la porzione più slargata al di sopra della cicatrice basale che è opposta alla radichetta. Si immerge la parte dell'achenio che contiene la radichetta nella soluzione al tetrazolo per 24 ore. Si estrae poi l'embrione dai tegumenti per mezzo di una lancetta da dissezione. Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie incolori sulla porzione dei cotiledoni che è opposta alla radichetta, se queste non oltrepassano la metà del cotiledone nel caso di necrosi superficiale e il terzo del cotiledone quando si tratti di necrosi profonda;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche indicate in 2 e 3.

c) Celtis australis L.

Si liberano i semi dalla polpa, quando questa è presente, dopo averli tenuti in acqua per 18-20 ore, asciugandoli poi sommariamente con carta da filtro. Si rompe il guscio con una morsa ad alveoli di dimensione opportuna. Si tengono i semi, così preparati, in acqua per 18-20 ore. Si libera l'embrione dalla pellicola, servendosi di una lancetta da dissezione, se l'operazione precedente non l'ha completamente rimossa. Si immergono gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Sono da considerare vitali i semi che presentano l'embrione completamente colorato. Sono tollerate piccole necrosi superficiali nella metà dei cotiledoni opposta alla radichetta.

d) Chamaecyparis thyoides L. (B.S.P).

Si tengono i semi in acqua per 18-20 ore. Si rimuove un quarto del seme dalla parte basale, opposta alla radichetta, mediante un bisturi sottile. I semi così trattati vengono immersi per 24 ore nella soluzione al tetrazolo. Si libera l'endosperma dai tegumenti seminali mediante una lancetta da dissezione e si separa l'embrione.

Vanno considerati vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

e) Cornus mas L. e Cornus sanguinea L.

Si tengono i semi in acqua per circa 48 ore. Con l'aiuto di piccole e robuste cesoie si taglia un terzo del seme dalla parte basale opposta alla radichetta. Si immergono i semi così preparati nella soluzione al tetrazolo per 48 ore. Servendosi di una lancetta da dissezione si estrae l'embrione dagli involucri seminali e dal sottile endosperma.

Sono da considerare vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta.

f) Corylus spp.

Si tengono le nocciole in acqua per 18-20 ore. Si rompe il guscio con una morsa o con una pinza per liberare i semi che vengono poi immersi in acqua per 18-20 ore. Si rimuovono i tegumenti seminali scuri con una lancetta da dissezione e si divide il seme in due parti lungo la linea di separazione dei cotiledoni. Si immergono nella soluzione di tetrazolo per 24 ore solo i cotiledoni che presentano radichetta e piumetta. Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie scolorate sul cotiledone se queste non superano la metà del cotiledone opposto alla radichetta e con necrosi nel centro della parte ventrale del cotiledone se il diametro della macchia non supera il raggio del cotiledone;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

g) Cotoneaster spp., Crataegus spp. e Rosa spp.

Si fanno rigonfiare le sementi in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di fini e robuste cesoie si rimuove la parte basale del seme, un terzo o poco più, cioè la parte più larga che contiene l'ilo e che è opposta alla radichetta. Si immergono i semi così preparati nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si estrae, per mezzo di una lancetta, l'embrione dagli invogli seminali.

I semi da considerare vitali sono quelli che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie bianche nella porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta, se queste non interessano più della metà del cotiledone quando si tratti di necrosi superficiali o più di un terzo del cotiledone nel caso di necrosi profonda;

4) embrione che riunisce contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

h) Eleagnus angustifolia L.

Si mettono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante piccole cesoie si taglia un terzo del seme dalla parte basale opposta alla radichetta. Si immerge il seme così preparato nella soluzione al tetrazolo per 24 ore.

Si rimuove l'embrione dai tegumenti seminali e dal rudimentale endosperma con una lancetta da dissezione.

Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie scolorate sulla metà superiore dei cotiledoni opposta alla radichetta;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

i) Evonymus europaea L.

Si mettono i frutti in acqua per 18-20 ore. Si rimuove la polpa dal seme e con piccole cesoie si taglia un terzo della parte basale opposta alla radichetta. Si mette il seme così preparato nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Mediante una lancetta da dissezione si rimuove il tegumento seminale e si pone il seme senza tegumento in acqua ancora per 3 ore.

Indi si rimuove la sottile pellicola procedendo dal taglio verso l'estremità del seme. Si apre l'endosperma e si libera l'embrione.

I semi da considerare vitali sono quelli che presentano embrione ed endosperma colorati completamente.

k) Fagus sylvatica L.

Si immergono i frutti nell'acqua per 18-20 ore. Si rimuove il pericarpo e si pongono i semi in acqua per un ulteriore periodo di almeno 6 ore. Con l'aiuto di una lancetta da dissezione si rimuove il tegumento e si pongono i semi nella soluzione di tetrazolo per 24 ore.

Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con macchia non colorata all'estremità della radichetta superiore ad un terzo della parte visibile della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate sulla metà superiore dei cotiledoni opposta alla radichetta, senza macchie non colorate sulla superficie esterna ed interna della metà inferiore dei cotiledoni. I cotiledoni devono essere aperti per rilevare eventuali macchie senza colore nascoste;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

l) Fraxinus spp.

Si rimuove il pericarpo con l'ala. I semi vengono quindi tenuti in acqua per 18-20 ore. Si asporta una striscetta di endosperma larga circa 1 mm da entrambi i fianchi del seme. Si immergono i semi così trattati nella soluzione di tetrazolo per 24-48 ore. Si apre l'endosperma nelle sue due metà per mezzo di una lancetta, mettendo allo scoperto l'embrione.

Sono da considerare vitali i semi che presentano:

1) embrione ed endosperma completamente colorati;

2) embrione completamente colorato, ma endosperma con macchie non colorate alla sua periferia e quindi in zone distanti dall'embrione.

m) Juniperus spp.

Si deve rimuovere la polpa della pseudobacca per liberare i semi, che vengono poi immersi in acqua per 18-20 ore. Si rimuove un quarto del seme dalla parte basale, opposta alla radichetta, mediante piccole robuste cesoie. I semi così trattati vengono immersi nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si libera l'endosperma includente l'embrione dai tegumenti seminali mediante una lancetta da dissezione. Si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Sono da considerare vitali soltanto i semi che presentino embrione ed endosperma completamente colorati.

n) Libocedrus decurrens Torr.

Si rimuove l'ala del seme secco. Si tagliano 1-2 mm dalla parte terminale del seme opposta all'ala. Si fanno rigonfiare i semi così preparati in acqua per 18-20 ore, indi si pongono nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con l'aiuto di una lancetta da dissezione si tolgono i tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Sono da considerare vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

o) Ligustrum vulgare L.

Si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante piccole cesoie si taglia un quarto di seme dalla parte opposta alla radichetta ed i semi così preparati si pongono nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Con una lancetta si rimuovono endosperma ed embrione dai tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Si considerano vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

p) Liriodendron tulipifera L.

Si taglia l'ala dal frutto secco e si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Si asportano 2-3 mm dalla parte terminale del seme opposta all'ala. I semi così preparati vengono posti nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Rimossi pericarpo e tegumenti seminali si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Sono da considerare vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

q) Malus spp. Pyrus spp. e Sorbus spp.

Si rimuove la polpa, se presente, per liberare i semi, che vengono poi fatti rigonfiare in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di una lancetta da dissezione si rimuovono entrambi i tegumenti seminali, in modo da mettere a nudo l'embrione. Si immergno quindi gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 18-20 ore.

Vanno considerati vitali i semi aventi:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate sulla porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta purché esse non superino la metà o un terzo del cotiledone, a seconda che si tratti rispettivamente di necrosi superficiale o profonda;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

r) Pinus cembra L., P. coulteri D. Don e P. Koraiensis Sieb. e Zucc.

Si rompe e si rimuove il guscio legnoso per mezzo di una pinza o di una morsa. Si tengono i semi così preparati in acqua per 18-20 ore. Si libera l'endosperma dal sottile tegumento seminale interno con una lancetta da dissezione. I semi così trattati vengono messi in soluzione di tetrazolo per 48 ore. Si apre l'endosperma e si separa l'embrione.

Sono da considerare vitali i semi aventi embrione completamente colorato e ben sviluppato, cioè occupante almeno la metà della cavità embrionale, nonché l'endosperma completamente colorato.

s) Pinus heldreichii Christ., P. jeffreyi Grev. e Balf., P. lambertiana Dougl. P. monticola Dougl. P. parviflora Sieb e Zucc. P. peuce Griseb., P. pumila Beg. e P. strobus L.

Con l'aiuto di un piccolo bisturi si tagliano 2-3 mm della parte terminale della radichetta del seme secco. Si fanno rigonfiare i semi così trattati in acqua per 18-20 ore, indi si mettono nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Mediante una lancetta da dissezione si tolgono i tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Vanno considerati vitali i semi che presentano embrione ed endosperma completamente colorati.

t) Prunus spp.

Si rimuove la polpa se è presente, poi si rompe il guscio con una morsa. I semi vengono immersi in acqua per 18-20 ore. I semi molto secchi non vanno immersi in acqua, ma debbono essere posti per una notte fra due fogli di carta da filtro bagnata o su sabbia bagnata per permetterne il graduale rigonfiamento. È consigliabile scarificare i semi dalla parte opposta della radichetta prima di passarli in acqua o su substrati bagnati per farli rigonfiare. Si rimuovono i tegumenti residui che avvolgono l'embrione per mezzo di una lancetta da dissezione e si mettono gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 18-20 ore.

Vanno considerati vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'apice della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate nella porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta purché esse non superino la metà o un terzo del cotiledone, rispettivamente nel caso di necrosi superficiale o profonda;

4) embrione con le caratteristiche 2 e 3 riunite.

u) Taxodium disticum Rich.

Si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante un piccolo bisturi si asporta un quarto del seme nella parte terminale più larga. I semi così preparati vengono messi nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con un bisturi si taglia il tegumento longitudinalmente e si rimuove l'endosperma con l'embrione. Si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.

Vanno considerati vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

v) Taxus spp.

I semi vanno tenuti in acqua per 18-20 ore. Si rimuove 1/4 del seme dalla parte basale per mezzo di piccole e forti cesoie. Quindi si immergono i semi così preparati nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con una lancetta si estrae l'endosperma, racchiudente l'embrione, dai tegumenti seminali. Si apre poi l'endosperma, e si scopre l'embrione, oppure si taglia longitudinalmente il seme a metà.

Sono da considerare vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

Se l'endosperma mostra una manifesta insufficienza di colorazione, il trattamento va ripetuto con le seguenti modalità: dopo essere stati preliminarmente tagliati, i semi vanno tenuti sotto vuoto per 4 ore a 45°C in una soluzione di tetrazolo dove poi rimarranno ancora durante la notte a 30°C.

w) Tilia spp.

Si rimuove il pericarpo dai frutti secchi e si tengono i semi in acqua per 18-20 ore. Si liberano i semi dal rivestimento che li avvolge coll'aiuto di una lancetta da dissezione e si pongono, così preparati, nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si apre quindi l'endosperma per mettere a nudo l'embrione.

Vanno considerati vitali i semi che presentano:

1) embrione ed endosperma completamente colorati;

2) embrione completamente colorato, ma endosperma con qualche piccola macchia superficiale sulla parte esterna.

6.3. Calcolo ed espressione del risultato.

6.3.1. *Calcolo del risultato.*

Per il calcolo del risultato finale e la verifica dell'attendibilità della prova si procede nel modo indicato per la determinazione della germinabilità (sez. 5.6.), adottando le differenze massime ammesse nella tabella 4.

Se la prova è risultata statisticamente attendibile il risultato finale è dato dalla media delle percentuali di semi considerati vitali ottenute nelle quattro ripetizioni.

6.3.2. *Espressione del risultato.*

Nel certificato di analisi il risulato di questa determinazione viene indicata in percento senza decimali.

7° — DETERMINAZIONE DELL'UMIDITÀ

7.1. Scopo.

Scopo della determinazione dell'umidità è quello di accertare il contenuto in acqua dei semi. Essa si esegue impiegando i seguenti metodi appropriati onde evitare, nel corso della determinazione, processi ossidativi, decomposizioni o perdite di sostanze volatili che possono alterare il risultato di analisi.

Essa va effettuata quanto prima possibile dopo il ricevimento del campione che deve essere conforme a quanto indicato nella sezione 1.3.3.

Si utilizza il metodo di essicamento in stufa per le specie indicate nelle tabelle 6 e 7.

Il grado di umidità è determinato dalla perdita di peso del campione, espressa come percentuale in peso.

7.2. Attrezzature.

Per la determinazione dell'umidità dei semi sono richieste le seguenti attrezzature di laboratorio:

a) bilancia analitica sensibile al milligrammo;

b) pesafiltri cilindrici di forma bassa di diametro non inferiore a 55 mm;

c) stufa a riscaldamento elettrico e a circolazione d'aria, provvista di regolatore termostatico che consente di raggiungere rapidamente, entro 1 ora, la temperatura di 130°C e di mantenerla a ± 2°C;

d) essiccatore di vetro contenente gel di silice colorato con cloruro di cobalto;

e) macinino per la triturazione dei semi, costruito con materiali che non assorbano o cedano umidità. Deve operare la triturazione dei semi in ambiente chiuso senza riscaldare il materiale durante la macinazione; deve consentire una facile pulizia delle diverse parti meccaniche che lo compongono e infine deve essere graduabile in modo da permettere sia una macinazione fine che una grossolana (sez. 7.3.2.).

7.3. Campione di analisi.

L'analisi deve essere fatta in due ripetizioni, separatamente prelevate dal campione di lavoro, ciascuna del peso di 4-5 g per il metodo in stufa.

Prima di prelevare il campione di lavoro, il campione ricevuto deve essere rimescolato accuratamente con uno dei seguenti metodi:

a) agitare con un cucchiaio il campione nel suo contenitore;

b) collocare l'apertura del contenitore originale contro l'apertura di un altro contenitore similare e versare il seme più volte avanti e indietro fra i due contenitori.

Il prelievo dei campioni di lavoro deve essere fatto il più rapidamente possibile, in modo che i campioni stessi non rimangano esposti all'aria per più di 30 secondi.

7.4. Triturazione dei semi.

I semi grossi, prima della determinazione in stufa, devono essere macinati a meno che il loro elevato contenuto in olio renda difficile la frantumazione (es. semi di lino) o provochi un aumento di peso per effetto dell'ossidazione.

Le specie per le quali è obbligatoria la frantumazione sono elencate nella tabella 5.

La triturazione prescritta può essere:

a) fine: almeno il 50% del materiale macinato deve passare attraverso un vaglio con maglie di 0,5 mm e non più del 10% deve rimanere sopra un vaglio con maglie di 1,0 mm; questo tipo di triturazione è prescritta per i semi di cereali e di cotone;

b) grossolana: almeno il 50% del materiale macinato deve passare attraverso un vaglio con maglie di 4,0 mm; questo tipo di triturazione è prescritto per i semi grossi di leguminose quali ad es. *Lupinus* spp., *Phaseolus* spp., *Pisum* spp. e *Vicia* spp. e di specie legnose.

TABELLA 5

SPECIE PER LE QUALI È OBBLIGATORIA LA TRITURAZIONE

Arachys hypogaea	*Oryza sativa*
Avena spp.	*Phaseolus* spp.
Cicer arietinum	*Pisum sativum* (tutte le varietà)
Citrullus lanatus (C. vulgaris)	*Quercus* spp.
Fagopyrum esculentum	*Ricinus communis*
Fagus spp.	*Secale cereale*
Glycine max	*Sorghum* spp.
Gossypium spp.	*Triticum* spp.
Hordeum vulgare	*Vicia* spp.
Lathyrus spp.	*Zea mays*
Lupinus spp.	

La triturazione va in ogni caso effettuata separatamente sui due campioni di lavoro, ciascuno di circa 10 g di seme.

7.5. PREESSICCAZIONE.

Se la specie in esame richiede di essere macinata ed il suo contenuto in umidità è tale (superiore al 17%, 10% per la soia) da non consentire una buona triturazione occorre la preessiccazione. I due sottocampioni, ciascuno di peso sufficiente in modo d'avere, dopo preessiccazione, il quantitativo di seme prescritto nella sezione 7.3., sono pesati e posti in contenitori di peso noto in stufa a 105°C per 30-60 minuti.

Si tiene quindi conto della perdita di peso avvenuta in ciascuno dei due sottocampioni e si procede poi alla triturazione nel metodo indicato alla sezione 7.4.

7.6. ESECUZIONE DELLE ANALISI.

La determinazione in stufa è fatta secondo due metodi:

a) bassa temperatura costante:

105°C ± 2°C per 17 ore a ± 1 ora per le specie elencate nella tabella 6;

b) alta temperatura costante:

130-133°C per 4 ore per *Zea mays*, 2 ore per gli altri cereali ed 1 ora per le altre specie indicate nella tabella 7.

Per entrambi i metodi si procede come segue: 5 g circa di seme appena prelevato o di materiale appena triturato vengono messi nel pesafiltro, previamente tarato col suo coperchio (peso a), in modo da formare uno strato di spessore uniforme che ricopra tutto il fondo del pesafiltro stesso.

Il pesafiltro viene quindi chiuso col coperchio e pesato nuovamente (peso b).

Si porta la stufa alla temperatura voluta e vi si introduce il pesafiltro ponendo accanto ad esso il relativo coperchio.

Si chiude subito la stufa e si attende che la temperatura, scesa durante la introduzione del pesafiltro, raggiunga nuovamente il grado desiderato.

Da questo momento si calcola il tempo di riscaldamento indicato in *a)* e *b)*.

Al termine il pesafiltro viene immediatamente chiuso col proprio coperchio e messo nell'essiccatore per 40 minuti circa, dopo di che viene nuovamente pesato (peso c).

TABELLA 6

SPECIE PER LE QUALI DEVE ESSERE USATA LA TEMPERATURA COSTANTE DI + 105°C

Allium spp
Arachis hypogaea
Brassica spp.
Camelina sativa
Capsicum spp.
Glycine max
Gossypium spp.
Linum usitatissimum
Raphanus sativus
Ricinus communis
Sesamum indicum (S. orientale)
Sinapis spp.
Solanum melongena

TABELLA 7

SPECIE PER LE QUALI DEVE ESSERE USATA LA TEMPERATURA COSTANTE DI + 130°C

Agrostis spp.
Alopecurus pratensis
Anethum graveolens
Anthoxanthum odoratum
Anthriscus spp.
Apium graveolens
Arrhenatherum spp.
Asparagus officinalis
Avena spp.
Beta vulgaris (tutte le varietà)
Bromus spp.
Cannabis sativa
Carum carvi
Chloris gayana
Cicer arietinum
Cichorium spp.
Citrullus lanatus (C. vulgaris)
Cucumis spp.
Cucurbita spp.
Cuminum cyminum
Cynodon dactylon
Cynosurus cristatus
Dactylis glomerata
Daucus carota
Deschampsia spp.
Fagopyrum esculentum
Festuca spp.
Holcus lanatus
Hordeum vulgare (tutte le varietà)
Lactuca sativa
Lathyrus spp.
Lepidium sativum
Lolium spp.
Lotus spp.
Lupinus spp.
Lycopersicon lycopersicum (L. esculentum)
Medicago spp.
Melilotus spp.
Nicotiana tabacum
Onobrychis viciaefolia
Ornithopus sativus
Oryza sativa
Panicum spp.
Papaver sonniferum
Paspalum dilatatum
Pastinaca sativa
Petroselinum crispum
Phalaris spp.
Phaseolus spp.
Phleum spp.
Pisum sativum (tutte le varietà)
Poa spp.
Scorzonera hispanica
Secale cereale
Sorghum spp.
Spinacia oleracea
Trifolium spp.
Trisetum flavescens
Triticum spp.
Valerianella locusta (V. olitoria)
Vicia spp.
Zea mays (tutte le varietà)

7.7. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

7.7.1. *Calcolo del contenuto in umidità.*

Il contenuto in umidità deve essere calcolato come percentuale in peso con una cifra decimale secondo la formula seguente:

$$\text{Umidità } \% = \frac{b - c}{b - a} \times 100$$

dove: a = peso del pesafiltro vuoto e del suo coperchio;
b = peso del pesafiltro col seme e del suo coperchio prima dell'essiccamento;
c = peso del pesafiltro col seme e del suo coperchio dopo l'essiccamento;

Se il materiale è stato sottoposto anche a preessiccamento il risulato finale sarà calcolato secondo la seguente formula:

$$\text{Umidità } \% = S_1 + S_2 - \frac{S_1 \times S_2}{100}$$

dove: S_1 = umidità persa nella prima fase (preessiccamento);
S_2 = umidità persa nella seconda fase.

7.7.2. *Tolleranze.*

La determinazione deve essere sempre fatta in due ripetizioni ed essa si deve ritenere esatta se la differenza fra le due ripetizioni non supera lo 0,2%.

Diversamente si deve ripetere la determinazione sempre in due ripetizioni.

7.7.3. *Espressione del risultato.*

Nel certificato di analisi si riporta la media delle due percentuali, espressa con una sola cifra decimale per arrotondamento.

8° — DETERMINAZIONE DEL PESO DI 1.000 SEMI

Scopo di questa determinazione è quello di accertare il peso di 1.000 semi del campione.

8.1. PROCEDURA.

Da ciascuna delle due frazioni di seme puro del campione di analisi per la determinazione della purezza, si contano 4 ripetizioni di 100 semi ognuna.

Ogni ripetizione viene pesata in grammi con lo stesso numero di decimali di un'analisi di purezza (sez. 3.2.d).

Si calcola quindi la varianza, la deviazione standard ed il coefficiente di variazione come segue:

$$\textit{Varianza} = \frac{n\,(\Sigma\, x^2) - (\Sigma\, x)^2}{n\,(n - 1)}$$

dove: x = peso di ogni ripetizione in grammi;
n = numero di ripetizioni;
Σ = sommatoria di

$$\text{Deviazione standard (S)} = \sqrt{\text{varianza}}$$

$$\text{Coefficiente di variazione} = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

dove: $\bar{x}$ = peso medio di 100 semi.

Il coefficiente di variazione non deve eccedere 6,0 per i semi vestiti di graminacee, 4,0 per gli altri semi.

In caso contrario occorre eseguire altre otto ripetizioni e calcolare la deviazione standard delle 16 ripetizioni; si scartano poi tutte le ripetizioni che si discostano dalla media per più di due volte la deviazione standard calcolata.

8.2. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULATO.

Si calcola il peso medio di tutte le ripetizioni risultate valide secondo i calcoli di cui alla sezione 8.1. e si moltiplica per 10 ottenendo così il peso di 1.000 semi.

Il risultato deve essere espresso in grammi con un numero di cifre decimali come per l'analisi di purezza (sez. 3.2.d.).

9° — DETERMINAZIONE DEL PESO PER ETTOLITRO

Questa determinazione viene effettuata in doppio con una bilancia di Tipo Schopper. La differenza tra i due pesi per ettolitro ottenuti non deve essere superiore a 500 g, altrimenti occorre ripetere la prova in doppio.

Il risultato è dato dalla media dei due pesi e viene espresso nel certificato di analisi in Kg con una sola cifra decimale.

10° — DETERMINAZIONE IN NUMERO DELLE CARIOSSIDI ROSSE NEL RISO

Per questa determinazione si preleva da ciascun campione di lavoro un campione di analisi di 250 g di seme, che viene sottoposto ad una operazione di sbramatura per liberare le cariossidi dalle glumelle.

Dalle cariossidi così svestite vengono separate e contate quelle che presentano il pericarpo totalmente o parzialmente rosso.

Per accertare se la differenza esistente tra i risultati delle due prove è statisticamente accettabile, si opererà nel modo indicato per la ricerca del numero di semi estranei (sez. 4.4.). Il risultato di questa ricerca viene espresso nello stesso modo indicato per la determinazione del numero di semi estranei (sez. 4.4.).

11° — ANALISI DEI SEMI CONFETTATI

Per i semi confettati, occorre seguire le norme particolari d'analisi qui di seguito indicate. In assenza di specifiche indicazioni, ci si deve attenere alle prescrizioni dei capitoli precedenti.

11.1. CAMPIONAMENTO.

11.1.1. *Peso del lotto.*

Il lotto di seme confettato non deve superare la quantità indicata nella colonna 2 delle tabelle dell'Allegato I con una tolleranza del 5% e non deve contenere comunque più di 500 milioni di confetti.

11.1.2. *Peso del campione medio di prelevamento.*

Il campione contiene normalmente un minor numero di semi di un corrispondente campione di semi non confettati e bisogna quindi avere grande cura al fine di avere un campione rappresentativo del lotto. Bisogna inoltre cercare di evitare ogni possibile danno ai confetti durante i prelievo, il confezionamento, ed il trasporto e la conservazione. Il campione deve essere infine posto in un contenitore di materiale impermeabile.

Il campione non deve contenere un numero di confetti inferiore a quello indicato nella colonna 2 della tabella 8.

TABELLA 8

CAMPIONI DI SEMENTI CONFETTATE, IN NUMERO DI CONFETTI

ANALISI	Campione medio di prelevamento non inferiore a	Campione di analisi non inferiore a
Analisi di purezza (compresa la verifica della specie) Determinazione del peso	7.500	2.500
Germinabilità	—	400
Ricerca di altre specie	10.000	7.500
Calibratura	10.000	2.000

Se il campione è più piccolo, si deve indicare sul certificato di analisi il numero reale di confetti in esso contenuti.

11.1.3. *Peso del campione di lavoro.*

Il campione di lavoro deve contenere un numero di confetti non inferiore a quello indicato nella colonna 3 della tabella 8 riportata nella sezione 11.1.2.

Si deve pertanto determinare prima il peso di 1.000 confetti per poter stabilire il peso del campione richiesto per l'analisi.

Se è usato un campione più piccolo si deve indicare sul certificato di analisi il numero effettivo di confetti impiegato.

Il campione di lavoro può essere prelevato con un divisore meccanico, purché l'altezza di caduta non superi 0,25 m. Si presta allo scopo il tipo «Soil divider» (sez. 1.4.1.a.).

11.2. ANALISI DI PUREZZA.

11.2.1. *Definizioni.*

Il campione di lavoro deve essere suddiviso in tre componenti:

a) Confetti puri:

confetti interi sia che contengano o no un vero seme;

confetti rotti o danneggiati nei quali più della metà della superficie del seme sia coperta dal materiale confettante, a meno che non sia evidente che il seme non appartiene alla specie indicata o che esso non sia presente.

b) Semi non confettati:

semi non confettati di qualsiasi specie;

confetti rotti contenenti semi che non appartengono alla specie indicata;

confetti rotti contenenti semi della specie indicata ma non includibili nella frazione dei confetti puri.

c) Materie inerti:

materiale confettante libero;

confetti rotti senza seme;

ogni altro materiale definito come materia inerte nella sezione 3.3.3.

11.2.2. *Esecuzione dell'analisi.*

Il campione di lavoro deve essere separato nei tre componenti come indicato nella sezione 11.2.1. Dopo la separazione ogni parte componente deve essere pesata in grammi con un numero di decimali necessario per calcolare la percentuale ad una cifra decimale (sez. 3.2.d.). La percentuale di confetti puri di semi non confettati e materie inerti deve essere riportata sul certificato, insieme con l'indicazione del tipo di materie inerti e del nome di ogni specie di semi non confettati trovate nell'analisi.

11.2.3. *Verifica della specie.*

Al fine di controllare se i semi confettati sono effettivamente della specie indicata per l'analisi, si prescrive che sia rimosso il materiale confettante da 100 confetti presi dalla frazione di seme puro confettato dell'analisi di purezza e che sia determinata la specie di ogni seme. Il materiale confettante può essere asportato o con il lavaggio o allo stato secco.

Si deve poi riportare il nome ed il numero di semi di ogni specie trovata.

11.2.4. *Analisi di purezza dei semi deconfettati.*

Se occorre procedere ad una analisi di purezza del seme deconfettato, il campione di lavoro deve essere sconfettato agitandolo entro un setaccio immerso in acqua e a maglie fini, tali da impedire perdite di seme.

Il materiale trattenuto dal setaccio viene essiccato per 12-24 ore su carta da filtro poi in una stufa a circolazione di aria come indicato nella sezione 7.5. Dopo l'essiccamento il materiale deve essere sottoposto all'analisi di purezza, in conformità al cap. 3°. Per le parti componenti, seme puro, altri semi, materie inerti, deve essere riportata la percentuale del loro peso totale, ignorando il materiale confettante. La percentuale del materiale confettante deve essere riportata separatamente e viene desunta per differenza dal peso del campione di lavoro di partenza.

11.3. DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI SEMI DI ALTRE SPECIE.

Questa determinazione deve essere fatta soltanto se richiesta e per i semi delle specie. o gruppo di specie, indicate; il risultato è espresso come numero di semi trovato nel numero di confetti esaminati.

11.3.1. *Esecuzione dell'analisi.*

Il campione di lavoro deve essere diviso in due sottocampioni. Il materiale confettante deve essere rimosso come indicato nella sezione 11.2.4., ma l'essiccamento non è obbligatorio.

Il peso effettivo ed il numero approssimativo dei semi confettati esaminati, il nome latino ed il numero di semi di ogni specie indicata o gruppi di specie, trovati in tale quantità di confetti, devono essere riportati nel certificato d'analisi; tuttavia il risultato, in aggiunta, può essere riportato in qualche altro modo, ad es. come numero di semi per kg.

11.4. ANALISI DI GERMINABILITÀ.

L'analisi di germinabilità deve essere fatta sui confetti puri dell'analisi di purezza. I confetti devono essere posti sul substrato senza sottoporli a prelavaggio, preammollamento o a qualsiasi altro pretrattamento.

Se richiesta, può essere fatta anche l'analisi di germinabilità aggiuntiva su semi deconfettati, o come controllo dell'analisi dei confetti. In questo caso i confetti devono essere presi dal seme puro dell'analisi di purezza e la sconfettatura deve essere fatta in modo tale da non danneggiare la capacità germinativa dei semi.

11.4.1. *Campione di lavoro.*

Si usano 400 confetti in quattro ripetizioni da 100 ciascuna.

11.4.2. *Materiali.*

Il substrato più appropriato per l'analisi di germinabilità del seme confettato, per le specie per le quali è attualmente in uso la confettatura, è la carta da filtro pieghettata CP (sez. 5.5.1.). La quantità di acqua può variare a seconda del materiale confettante e della specie di seme, in modo da raggiungere le condizioni ottime per la germinazione. Se il materiale confettante aderisce ai cotiledoni, si deve spruzzare cautamente dell'acqua sui germinelli al momento del conteggio.

11.4.3. *Durata dell'analisi.*

Può essere necessaria una durata del periodo di analisi superiore a quella prescritta alla sezione 5.5.3. Tuttavia una germinazione lenta può indicare che le condizioni di analisi non sono quelle ottime e può essere fatta, a confronto, un'analisi di germinazione con semi deconfettati.

11.4.4. *Valutazione dei germinelli.*

La distinzione dei germinelli in normali ed anormali deve essere fatta secondo le indicazioni della sezione 5.5.4.

Le anomalie possono essere dovute anche al materiale confettante e, qualora ci fosse questo sospetto, si deve fare un'altra prova in sabbia o terreno di buona qualità, secondo la sezione 5.5.4.

Un confetto è considerato germinato se produce almeno un germinello normale della specie indicata. Devono essere pure annotati i confetti che producono due o più di tali germinelli.

I confetti che hanno prodotto germinelli non appartenenti alla specie indicata non devono essere considerati germinati. Il loro numero però deve essere riportato sul certificato.

11.4.5. *Calcolo della monogermia.*

Il calcolo della monogermia dei semi confettati, ovvero dei confetti che hanno prodotto un solo germinello, è espresso come percentuale del numero totale di confetti che hanno prodotto almeno un germinello normale nell'analisi di germinazione.

11.4.6. *Espressione del risultato.*

Sul certificato di analisi si devono riportare le percentuali di confetti che hanno prodotto germinelli normali, germinelli anormali e di quelli che non sono germinati.

11.5. DETERMINAZIONE DEL PESO E DEL CALIBRO.

A causa delle esigenze tecniche della semina di precisione, può essere necessaria la determinazione del peso e del calibro dei confetti.

11.5.1. *Determinazione del peso.*

La determinazione del peso deve essere fatta con confetti presi dalla frazione del seme puro dell'analisi di purezza (sez. 11.2.1.a.) e fatta secondo le prescrizioni del cap. 9°.

11.5.2. *Calibratura..*

La calibratura deve essere fatta secondo le prescrizioni del cap. 12°, fatta eccezione per il campione di lavoro che non deve contenere un numero di confetti inferiore a quello indicato nella colonna 3 della tabella 8 e che deve essere pesato prima della vagliatura. I risultati sono espressi come percentuale del peso totale dei confetti del campione di lavoro.

11.6. ESPRESSIONE DEI RISULATI.

Sul certificato di analisi deve essere riportata l'indicazione «Seme confettato» possibilmente a fianco della voce «Risultati di analisi».

I risultati dell'analisi di purezza dovranno essere espressi nelle tre voci indicate alla sezione 11.2.1. e con la stessa terminologia.

Dovrà essere indicata anche la verifica della specie (sez. 11.2.3.).

Qualora fossero richieste analisi di purezza del seme deconfettato o del numero di semi di altre specie, i relativi risultati devono essere espressi, come indicato nelle rispettive sezioni 11.2.4. e 11.3. I risultati dell'analisi di germinabilità devono essere espressi come pescritto alla sezione 5.6.2. con l'aggiunta della indicazione dei confetti che hanno prodotto germinelli diversi da quelli della specie indicata (sez. 11.4.4.).

Il risultato relativo al grado di monogermia, qualora richiesto, deve essere espresso come percentuali di confetti monogermi, bigermi, trigermi, in rapporto alla percentuale complessiva dei confetti germinati.

12° — CALIBRATURA DEI SEMI

Le seguenti norme sono applicabili esclusivamente ai semi di *Beta* spp. ed ai semi confettati.

Il controllo del calibro è fatto su un campione di almeno 250 g che deve essere inviato al laboratorio in un contenitore di materiale impermeabile.

L'analisi deve essere fatta su due campioni di lavoro di circa 50 g ciascuno, comunque non meno di 45 g e non più di 55 g.

I due campioni di lavoro vengono sottoposti separatamente ad una vagliatura.

Devono essere usati i seguenti vagli a fori rotondi:

uno con fori di 0,25 mm di diametro inferiore al valore nominale più basso delle dimensioni del seme;

una serie di setacci con intervallo di calibro di 0,25 mm;

un setaccio con fori di 0,25 mm di diametro superiore al valore nominale maggiore delle dimensioni del seme.

L'ampiezza di oscillazione dei vagli deve essere compresa fra 45 e 50 mm.

La durata di vagliatura deve essere di un minuto per i semi confettati e di 3 minuti per quelli non confettati.

Le frazioni vagliate, compresa quella che passa attraverso il setaccio inferiore, sono pesate ed il peso è indicato con due cifre decimali.

I pesi delle frazioni sono espressi come percentuali, ad una cifra decimale, del peso totale. La media dei valori ottenuti dai due campioni di lavoro rappresenta il risultato dell'analisi purché la differenza tra le percentuali rispetto alla media, non superi l'1,5%.

Se tale limite è superato deve essere analizzato un altro campione di 50 g e, se necessario, anche un quarto.

In ogni caso si deve riportare sul certificato di analisi la media di due calibrature che cadano entro i limiti di tolleranza ammessi.

13° — DETERMINAZIONE DELLO STATO SANITARIO DELLE SEMENTI

13.1. Scopo.

Lo scopo dell'analisi sanitaria delle sementi è quello di determinare lo stato sanitario di un campione di semi rappresentativo del lotto cui si riferisce. Essa consente di rilevare la presenza di malattie che possono ridurre il valore agronomico e commerciale del seme.

Lo stato sanitario del seme riguarda principalmente la presenza o assenza di organismi patogeni come funghi, batteri, virus e organismi animali (nematodi, insetti, ecc.). In qualche caso può riguardare anche disturbi di carattere fisiologico del seme come, ad esempio, la carenza di microelementi.

È opportuno accertare se il seme è stato trattato e quale prodotto è stato usato.

13.2. Campione di analisi.

Quando non sia diversamente richiesto, il campione di analisi deve essere costituito da almeno 400 semi puri presi dal campione medio di prelevamento (sez. 1.2.1.c.).

13.3. Esecuzione delle analisi.

13.3.1. *Direttive generali.*

Per l'esecuzione delle analisi si adottano metodi basati sull'esame dei semi senza incubazione, e/o dopo incubazione, sull'esame delle plantule con tecniche particolari. La scelta del metodo dipende dal tipo di patogeno, dalle condizioni in cui si opera, dalla specie di seme in esame e dallo scopo dell'analisi.

a) Esame senza incubazione.

Queste prove non danno alcuna indicazione sulla vitalità del patogeno:

1) *Esame del seme secco.*

Viene esaminato il campione medio di prelevamento o un suo sottocampione, con o senza microscopio stereoscopico, per ricercare sclerozi del genere *Claviceps* o altri sclerozi, galle di nematodi, clamidospore di carboni, insetti, acari, segni evidenti di malattie e di danni da insetti sui semi o su materiali inerti, come anche corpi fruttiferi di microrganismi, alterazioni di colore e qualsiasi altro danno.

2) *Esame di semi imbibiti.*

Il campione di analisi viene immerso in acqua o in altro liquido per rendere più facilmente visibili corpi fruttiferi, sintomi di alterazioni o parassiti animali, oppure per facilitare la liberazione delle spore. Dopo l'imbibizione i semi vengono esaminati esternamente o internamente, preferibilmente al microscopio stereoscopico.

3) *Esame di organismi rimossi mediante lavaggio.*

Il campione di analisi viene immerso in acqua con aggiunta di un bagnante, oppure in alcool, agitato energicamente per rimuovere spore fungine ife, nematodi, ecc., presenti nella semente o aderenti al seme. Il liquido in eccesso viene quindi eliminato mediante filtrazione o centrifugazione, e il materiale estratto viene esaminato al microscopio.

b) Esame dopo incubazione.

Dopo un determinato periodo di incubazione il campione di analisi viene esaminato per rilevare la presenza di microrganismi patogeni. o sintomi di malattia, parassiti animali e disturbi di carattere fisiologico nei semi o nei germinelli. Comunemente vengono usati due tipi di substrati:

1) Substrati di carta umida nei casi in cui si deve osservare lo sviluppo di microrganismi patogeni o quando si devono esaminare le plantule. I semi, con o senza pretrattamento,vengono disposti sulla carta e distanziati in modo da evitare la diffusione di saprofiti per contatto. Quando è necessario si applicano particolari condizioni di luce atte a stimolare la sporificazione dei funghi. In alcuni casi può essere utile inibire la germinazione con sostanze chimiche o con altri mezzi. Alcuni patogeni possono essere identificati senza ingrandimento, ma il più delle volte è necessario lo stereomicroscopio o il microscopio a forte ingrandimento per l'identificazione delle spore fungine.

2) Substrati agarizzati quando è necessario per l'identificazione dei microrganismi che si sviluppano dai semi. In questo caso è necessario operare in condizioni di sterilità. I semi, di solito dopo pretrattamento, sono deposti sulla superficie dell'agar sterilizzato e incubati. È possibile identificare le colonie che si sviluppano sull'agar dalle loro caratteristiche, con l'osservazione macroscopica o microscopica. Spesso può essere utile l'azione della luce durante l'incubazione; inoltre, possono essere usati inibitori della germinazione.

c) Esame delle plantule.

In alcuni casi l'osservazione di determinati sintomi sulle plantule è il metodo più pratico per determinare la presenza di batteri, funghi o virus nel campione di semi. Allo scopo, si può o seminare semi del campione in prova, oppure usare l'inoculo ottenuto dai semi del campione per effettuare prove di infezione artificiale su plantule sane o su parti di piante sane. In questo caso le piante devono essere protette da possibili infezioni provenienti dall'esterno, per cui sono necessarie particolari precauzioni.

d) Altre tecniche.

Per alcuni particolari agenti patogeni (batteri, virus) vengono adottati appositi metodi specifici come reazioni sierologiche, od altro.

Per stimolare la sporificazione e favorire l'identificazione si raccomanda l'uso di luce alternata durante l'incubazione, con periodi di 12 ore di buio e 12 ore di esposizione a luce NUV (luce ultravioletta ottenibile da lampade fluorescenti a «luce nera» con picco a 360 nm). Possono dare risultati soddisfacenti anche tubi fluorescenti a luce diurna.

13.3.2. *Direttive specifiche.*

Nella presente Sezione vengono descritte le metodiche di analisi già standardizzate per la ricerca di alcuni patogeni per le specie di semi o gruppi di specie. Per altre metodiche, relative a specie o patogeni non riportati nel presente elenco, si rimanda ai metodi internazionali di analisi delle sementi.

I metodi messi a punto nelle Direttive specifiche non sono, di norma, idonei per semi conciati.

Quando non è diversamente stabilito, il pretrattamento con ipoclorito di sodio consiste nell'immersione dei semi per 10 minuti in una soluzione di ipoclorito di sodio all'1%, e successiva decantazione del liquido.

Per il metodo su carta umida e substrati agarizzati si usa acqua distillata o deionizzata.

Quando viene indicato il numero di semi da porre in una capsula Petri, ci si riferisce ad una capsula Petri di 10 cm di diametro.

13.3.2.1. *Compositae.*

Botrys cinerea Pers. ex Pers. su *Helianthus annuus.*

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (160 g/m²).

Metodo: preparare 80 capsule Petri e porre in ciascuna di esse due dischi di carta da filtro, aggiungere 5 ml di una soluzione al 3% di estratto di malto. Togliere il liquido in eccesso e porre 5 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 9 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 5, 7 e 9 giorni esaminare i semi ad occhio nudo per osservare le radichette che presentano marciume e sono coperte da micelio grigio, abbondante. Nei casi dubbi può essere utile esaminare il micelio a un ingrandimento di 200 x per osservare le ife settate, nastriformi e i ciuffi di conidiofori ramificati.

Virus del mosaico della lattuga su *Lactuca sativa:*

a) Esame delle plantule.

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: terreno torboso con aggiunta di una adeguata quantità di elementi nutritivi per ottenere uno sviluppo soddisfacente delle plantule.

Metodo: i semi vengono seminati ad una distanza di almeno 2,5 cm uno dall'altro e ricoperti con uno strato di terra di circa 1 mm.

Incubazione: 5 giorni a 5-10°C al buio, e successivamente per 13-19 giorni a 20°C a luce continua. Il numero di giorni necessario per ottenere lo sviluppo di almeno 3 foglie varia a seconda della varietà. Come sorgente di luce si usano lampade fluorescenti con emissione di luce blu (400-510 nm) e luce rossa (699-700 nm). Sono sufficienti 8 tubi Sylvania «Gro Lux» da 40 watt per ogni 0,6 m² :120 x 50 cm), da collocarsi ad una distanza di circa 30 cm dalla superficie del substrato. La cella climatica non deve essere infestata da afidi.

Esame: contare le piantine che presentano a vista sintomi di mosaico sulle prime 3 foglie vere. L'osservazione dei sintomi può essere facilitata esaminando le piantine per trasparenza, tenendole sollevate verso una sorgente di luce diffusa.

Valutazione del metodo: il metodo si è dimostrato attendibile. Infatti, la variazione fra le replicazioni della prova non è mai risultata superiore a quella dovuta al campionamento (Rohloff I., ISTA Handbook of Seed Health Testing - Working Sheet n. 9, 2ª ed.).

b) Metodo su Chenopodium quinoa.

Crescita delle piante: si seminano in terreno i semi di *C. Quinoa.* Successivamente si trapiantano le singole piante, allo stadio di sviluppo dei cotiledoni o di 2 foglie, in vasi di 10 cm di diametro massimo contenenti terra. Le piante così preparate sono tenute a temperatura da 18°C a 20°C, con esposizione a luce artificiale (cicli di 16 ore di luce e 8 ore di buio).

Se non è possibile ottenere queste condizioni le piante, dopo la crescita a luce continua, dovrebbero essere poste al buio per 24 ore prima delle inoculazioni. Le piante sono pronte quando si sono sviluppate da 4 a 6 foglie. Non si devono usare piante con fiori.

Preparazione dell'inoculo: pesare 10 campioni di semi di lattuga, ciascuno costituito di 700 semi. Frantumare i semi di ogni campione in 5 ml di una soluzione tampone a pH 7 di $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$ 0,03 M, con aggiunta di una soluzione allo 0,2 per cento di dietil-ditiocarbammato di sodio ($C_5H_{10}NNaS_2 \cdot 3\ H_2O$) e una soluzione allo 0,5 per cento di $NaHSO_3$. Aggiungere 375 mg di carbone attivato e usate l'impasto, come inoculo, entro 10 minuti dalla preparazione.

Inoculazione: l'inoculo preparato da ciascun campione di semi di lattuga viene usato per inoculare le foglie di *C.quinoa* dopo aver lievemente cosparso la superficie fogliare con carborundum. Per ogni campione inoculare 3 foglie giovani di 3 piante. Dopo l'inoculazione le foglie vengono risciacquate leggermente con acqua di rubinetto. Le piante devono quindi essere coperte con buste di plastica per 24 ore per mantenere le foglie inoculate in condizioni di elevata umidità, specie se le celle climatiche hanno un basso livello di umidità.

Incubazione: le piante inoculate devono essere poste in serra o preferibilmente in una camera di crescita a 25°C con esposizione a luce artificiale (cicli di 16 ore di luce e 8 ore di buio), oppure a luce continua, per un periodo da 5 a 14 giorni.

Esame: le piante vengono esaminate dopo un periodo che va da 6 a 20 giorni, per rilevare i sintomi che possono comparire sulle foglie inoculate come macchie clorotiche localizzate e sulle foglie apicali come macchie sistemiche di mosaico. I sintomi sono di facile rilevamento a vista.

Valutazione del metodo: il metodo si è dimostrato attendibile dato che la presenza di un solo seme infetto in un campione di 700 semi, ha dato reazione positiva. Perciò la probabilità di rilevare specifici livelli di infezione può essere calcolata dalle tavole derivate dalla Legge di Poisson. Per esempio, 1 o 2 reazioni positive su 10 indicheranno, con una probabilità del 95 per cento, che il livello medio di infezione del lotto di seme è inferiore allo 0,1 per cento, 9 reazioni positive indicheranno che questa media è superiore allo 0,1 per cento, con probabilità del 98 per cento. La sensibilità del metodo risulta maggiore se si usano 500 semi per gruppo invece di 700 (Rohloff I., ISTA Handbook of Seed Health Testing - Working Sheet n. 9, 2° ed.).

13.3.2.2. *Cruciferae.*

Leptosphaeria maculans (Desm.) Ces. e de Not., stato imperfetto:

Phoma lingam (Tode ex Fr.) Desm. su *Cruciferae.*

Campione di lavoro: 1000 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri e aggiungere 5 ml di una soluzione allo 0,2% del sale di sodio dell'acido 2-4 dicloro-fenossiacetico per inibire la germinazione del seme. Togliere l'eccesso della soluzione di 2-4D, lavare i semi in acqua sterile e porre 50 di essi in ciascuna capsula.

Incubazione: 11 giorni a 20°C con cicli alternati di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: dopo sei giorni esaminare ad ingrandimento di 25 x per osservare la crescita di micelio bianco-argento, aereo e i primordi dei picnidi di *Phoma lingam* sul seme e sul substrato. Dopo 11 giorni fare un secondo esame per osservare i picnidi sui semi infetti e sulla carta da filtro vicino ai semi infetti.

Alternaria brassicicola (Schw.) Wilts. su *Brassica* spp.

a) Campione di lavoro: 1000 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 50 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 6 giorni a 18-20°C con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: macchie scure allungate sui cotiledoni e sull'ipocotile. conidi di colore da verde oliva a bruno scuro, disposti in catene e provvisti di rostro corso, non ben visibile. La misura dei conidi è di 18-120 x 8-20 µm. I setti verticali sono meno frequenti che in *A. brassicaee* e i conidi di colore più scuro. Il corpo del conidio è molto più lungo di quello di *A. tenuis.*

b) Campione di lavoro: 1000 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 25 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 5 giorni a 18-20°C preferibilmente con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: colonie con micelio aereo di colore verde oliva chiaro, aspetto vellutato, con fruttificazioni conidiche disposte a cerchi concentrici.

Alternaria brassicae (Berk.) Sacc. su *Brassica* spp.

a) campione di lavoro: 1000 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 50 semi in ciacuna capsula.

Incubazione: 6 giorni a 18-20°C con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: macchie scure e strisce sui cotiledoni e sull'ipocotile, non così scure come in A. brassicicola. Conidi di colore da verde oliva chiaro a bruno, con setti longitudinali e trasversali, provvisti di rostro. I conidi misurano 75-350 x 20-30 µm. Il rostro è lungo da 1/3 a 1/2 della lunghezza totale del conidio.

b) Campione di lavoro: 1000 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 25 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 5 giorni a 18-20°C preferibilmente con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: colonie con micelio aereo cotonoso, di colore bianco o rosa, con zone di fruttificazioni conidiche disposte a cerchi, di colore da verde chiaro a verde oliva scuro. Il micelio sommerso presenta crescita radiale o ondulata, non colorato o di colore verde scuro. La fruttificazione conidica è abbondante.

13.3.2.3. *Graminaceae.*

Leptosphaeria nodorum Müller, stato imperfetto: *Septoria nodorum* Berk. su *Triticum aestivum:*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 14 giorni a 10°C al buio.

Esame: macchie brune sul coleoptile, con o senza attorcigliamento del germinello; il coleoptile appare spesso accorciato e piccole protuberanze scure possono essere presenti sul germinello, specie se l'umidità è scarsa. Con condizioni di umidità elevata, dopo 2 giorni, si sviluppano sul coleoptile i picnidi di *Septoria nodorum.* Se il periodo di incubazione è più breve e la temperatura più elevata, le protuberanze sono meno evidenti.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto o agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 6 giorni a 22°C al buio.

Esame: colonie rotonde, a crescita lenta, finemente lanose, con micelio aereo bianco che spesso ricopre il seme. Il retro della colonia è di colore giallo, giallo scuro, tendente al colore oliva, molto variabile. I picnidi difficilmente si sviluppano durante il periodo della prova.

Calonectria nivalis Schaffn., sin. *Micronectriella nivalis* (Schaffn.) Booth, stato imperfetto: *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., su *Triticum aestivum:*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo averli rapidamente immersi in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 14 giorni a 8-10°C al buio.

Esame: colorazione scura del coleoptile, diffusa o ristretta in piccole zone. Le radici sono imbrunite alla base, sui germinelli non vi sono protuberanze come quelle causate da *S. nodorum.* Non si formano masse di conidi come in *Fusarium culmorum* e *F. avenaceum.*

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretràttamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 8 giorni a 22°C a luce diurna o fluorescente, oppure al buio.

Esame: colonie a crescita rapida, di colore da bianco a rosa pallido, con formazione di cordoni o filamenti miceliali. Con esposizione alla luce si producono, durante la prova, conidi di *F. nivale* ialini, 1-3 settati, curvi, 10-30 x 2,5-5 µm.

Ustilago nuda (jens.) Rostr. su *Hordeum vulgare:*

Campione di lavoro: 2 replicazioni di 100-120 g di semi che contengono, in relazione al peso di 1000 semi, da 2000 a 4000 semi.

Metodo: porre il campione di lavoro in 1 litro di una soluzione acquosa al 5% di idrato di sodio (NaOH), preparata di fresco. Mantenere in immersione a 20°C per 24 ore.

Trascorso questo tempo trasferire l'intero campione in un adatto contenitore e lavare i semi in acqua tiepida per separare gli embrioni che fuoriescono dai pericarpi ammorbiditi. Raccogliere gli embrioni in un setaccio con fori di 1 mm. Se necessario, si possono usare setacci con fori piu grandi per raccogliere i pezzi di endosperma e la pula. Trasferire gli embrioni in una miscela in parti uguali di lattofenolo (un terzo di glicerolo, un terzo di fenolo e un terzo di acido lattico) e acqua, nella quale si potrà fare l'ulteriore separazione di embrioni e pula.

Trasferire gli embrioni in un becker contenente acqua pulita, liberarli dal lattofenolo e rischiararli mantenendo il lattofenolo al punto di ebollizione per circa 30 secondi sotto cappa.

Trasferire gli embrioni in glicerina leggermente tiepida per l'esame.

Esame: esaminare 1000 embrioni per ciascuna replicazione con ingrandimento di 16-25 x e con adeguato apparecchio di illuminazione per osservare il micelio caratteristico di colore bruno chiaro di *Ustilago nuda.*

Pyrenophora graminea Ito e Kuribay., stato imperfetto: *Drechslera graminea* (Rabenh. ex Schlecht.) Shoemaker, su *Hordeum vulgare:*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 8 giorni a 20°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore d buio, oppure 12 ore a 20°C alla luce (NUV o diurna) e 12 ore a 5-10°C al buio.

Esame: conidiofori corti, di colore bruno scuro. Conidi piu scuri dei conidiofori, 50-80 x 14-20 µm, prevalentemente in catene di 2-3 conidi. In condizioni di elevata umidità si possono formare catene di 5-6 conidi.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio o agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 8 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: colonie di colore grigio o verde oliva scuro, con sfumature di colore arancio, di solito, senza produzione di conidi. Qualche volta si formano picnidi sul seme.

Pyricularia oryzae Cav. su *Oryza sativa:*

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: a) 7 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio; *b)* 1 giorno a 20°C, 1 giorno a — 20°C e 5 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: esaminare i semi allo stereomicroscopio, 12-50 x. Generalmente il fungo produce colonie piccole, di colore grigio, localizzate sulle glume, e che sono costituite da conidiofori corti, delicati, che portano corone di conidi all'apice. Raramente lo sviluppo del fungo riesce a coprire l'intero seme. Al microscopio, i conidi appaiono tipicamente piriformi, ialini, con la base troncata e provvista di un piccolo dente, 2-settati, di solito con apice appuntito 20-25 x 9-12 µm. Per una corretta identificazione di *P. oryzae* sul seme, è essenziale che il seme sia esaminato con molta attenzione allo stereomicroscopio con ingrandimento compreso tra 25 e 50 x.

È inoltre necessario fare attenzione a non confondere la crescita di *Pyricularia* con un saprofita molto comune, *Cladosporium.* Quando si osservano, allo stereomicroscopio, corone di pochi conidi portati da conidiofori chiari, si può fare la diagnosi di *Pyricularia.* Nel *Cladosporium,* i conidi, numerosi, sono raggruppati su un conidioforo più lungo e scuro. Nei casi dubbi è necessari osservare i conidi a più forte ingrandimento (200-400 x).

Cochliobolus miyabeanus (Ito e Kuribay.) Drechsl. ex Dastur, stato imperfetto: *Drechslera oryzae* (van Breda de Haan) Subramanian e Jain su *Oryza sativa:*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 8 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: conidiofori prodotti non solamente sul tegumento del seme ma anche su micelio aereo, di colore grigio, che ricopre tutto o una parte del seme, dandogli un aspetto lanuginoso. I conidi, di colore da giallo a bruno chiaro, mai molto scuri, di solito curvi, misurano 35-170 x 11-17 µm. Si possono osservare, a volte, anche marciume dei germinelli e lesioni lineari, scure sul coleoptile.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 8 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: colonie di colore bruno scuro, a crescita rapida, con margini regolarmente circolari e produzione di poco micelio aereo di colore bianco o grigio. Rapida fruttificazione conidica.

13.3.2.4. *Leguminosae.*

Ascochyta pisi Lib. su *Pisum sativum:*

Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto o agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: sette giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo sette giorni esaminare ogni seme ad occhio nudo per osservare l'abbondante micelio bianco che spesso ricopre i semi infetti. L'identificazione delle colonie fungine in dubbio potrà essere confermata dalla presenza di ife ondulate nella parte aerea della colonia, quando osservate con ingrandimento di 25 x.

Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. e Magn.) Bri. e Cav. su *Phaseolus vulgaris:*

Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: carta da filtro (160 g/m^2), 35 x 45 cm.

Metodo: distribuire i semi in replicazioni di 50 su due fogli di carta da filtro, che è stata prima bagnata in acqua. Coprire i semi con un altro foglio dello stesso tipo di carta bagnata in acqua. Ripiegare la carta due volte nel senso della lunghezza e coprire con un foglio di polietilene per mantenere l'umidità durante l'incubazione.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 7 giorni rimuovere il tegumento dei semi e osservare la presenza di macchie scure con margini ben definiti sui cotiledoni. Per le osservazioni usare lo stereomicroscopio con ingrandimento 25 x e conteggiare i semi che presentano acervuli con sete nere, settate.

13.3.2.5. *Linaceae.*

Botrytis cinerea Pers. ex Pers. su *Linum usitatissimum:*

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: agar malto al 2% di agar e 1% di estratto di malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: sette giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo cinque e sette giorni osservare la presenza di radichette con marciume molle e coperte da abbondante micelio grigio. Nei casi dubbi si può avere conferma mediante l'osservazione con ingrandimento di 200 x, per l'esame di ife settate, nastriformi e di ciuffi di conidiofori ramificati.

13.3.2.6. *Umbelliferae.*

Alternaria dauci (Kühn) Groves e Skolko su *Daucus carota:*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 10 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: marciume molle dei germinelli e produzione di conidi di colore da giallo a bruno chiaro, provvisti di un lungo rostro all'apice. I conidi misurano 100-450 x 16-25 µm. Il rostro è lungo 3 volte la lunghezza del corpo del conidio.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: colonie scure con micelio aereo di colore grigio verde e diffusione caratteristica di un pigmento bruno nell'agar. L'esposizione alla luce NUV può facilitare la fruttificazione conidica.

Alternaria radicina Meier, Drechsl. e Eddy, sin. *Stemphylium radicinum* (Meier, Drechsl. e Eddy) Neerg., su *Daucus carota.*

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman no. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 10 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: marciume molle dei semi e dei germinelli e produzione di conidi scuri, lucenti, a forma di botte, provvisti di setti trasversali e longitudinali, 25-57 x 9-27 µm.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C; la luce, applicata come al metodo di cui al punto *a)*, può facilitare la produzione di conidi.

Esame: colonie di colore grigio oliva scuro, con abbondante micelio aereo grigio. Il margine delle colonie può essere molto irregolare o circolare. La produzione di conidi può essere facilitata dalla esposizione alla luce. Di solito gli isolati producono nell'agar cristalli caratteristici, durante il periodo della prova, che consentono di distinguere le colonie da quelle di *Alternaria tenuis.*

13.4. ESPRESSIONE DEI RISULTATI.

I risultati vengono espressi in percentuale di semi infetti, oppure con il numero di organismi riferito al peso del campione esaminato.

Nel certificato deve essere anche riportata l'indicazione del metodo usato, del pretrattamento nei casi in cui è stato effettuato e la quantità di campione, o frazione, esaminata.

Il Ministro dell'agricoltura e delle foreste
PANDOLFI

ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Agropyron cristatum (L.) Gaertn. (Agropiro crestato)	1,40	10.000	40	4	40
Agropyron desertorum (Fisch. ex Linck) Schult. (Agropiro dei deserti)	2,30	10.000	60	6	60
Agropyron trachycaulum (Link) Malte ex H. Lewis (Agropiro tenue)	2,90	10.000	80	8	80
Agrostis canina L. (Agrostide canina)	0,08	10.000	50	0,5	5
Agrostis capillaris L. (= A. tenuis Sibth.)	0,08	10.000	50	0,5	5
Agrostis gigantea Roth (Agrostide bianca)	0,08	10.000	50	0,5	5
Agrostis stolonifera L. incluso A. palustris Huds. (Agrostide stolonifera e A. palustre)	0,08	10.000	50	0,5	5
Allium cepa L. (Cipolla)	3,60	10.000	80	8	80
Allium porrum L. (Porro)	2,70	10.000	70	7	70
Allium schoenoprasum L. (Erba cipollina)	1,10	10.000	30	3	30
Alopecurus pratensis L. (Coda di volpe)	0,80	10.000	100	3	30
Anethum graveolens L. (Aneto)	1,00	10.000	40	4	40
Angelica archangelica L. (Angelica)	4,00	10.000	100	10	100
Anthoxanthum odoratum L. (Paleo odoroso)	0,60	10.000	25	2	20
Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm. (Cerfoglio)	2,20	10.000	60	6	60
Anthyllis vulneraria L. (Antillide)	2,50	10.000	60	6	60
Apium graveolens L. (Sedano)	0,30	10.000	25	1	5
Arachis hypogaea L. (Arachide)	60-100	20.000	1000	1000	1000
Arrhenatherum elatius (L.) P. Beauv. ex J.S. et K.B. Presl. (Avena altissima)	3,00	10.000	200	8	80
Asparagus officinalis L. (Asparago)	20,00	20.000	100	10	100
Atriplex hortensis L. (Atreplice)	4,00	10.000	100	10	100
Atropa belladonna L. (Belladonna)	1,10	10.000	30	3	30
Avena byzantina K. Koch (Avena bizantina)	40,00	20.000	1000	100	1000
Avena sativa L. (Avena)	33,00	20.000	1000	120	1000
Barbarea verna (Mill.) Ascher (Barbarea)	0,80-0,90	10.000	25	2,5	25
Beta vulgaris L. (Barbabietola)	20,00	20.000	500	50	500
Borago officinalis L. (Borragine)	18,00	20.000	450	45	450
Brassica chinensis L. (Cavolo sedano)	2,50	10.000	40	4	40

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Brassica juncea L. Czernj. et Cosson (Senape indiana)	2,10	10.000	40	4	40
Brassica napus L. (Colza)	4,00	10.000	200	10	100
Brassica napus L. var. napobrassica (L.) Reichb. (Navone e Rutabaga)	2,70	10.000	200	10	100
Brassica nigra (L.) Koch (Senape nera)	2,00	10.000	100	4	40
Brassica oleracea L. (Cavolo)	3,00	10.000	200	10	100
Brassica pekinensis (Lour.) Rupr. (Cavolo cinese)	2,00	10.000	40	4	40
Brassica rapa L. incl. B. campestris L. subsp. oleifera DC. (Rapa e Ravizzone)	1,90	10.000	200	7	70
Bromus arvensis L. (Bromo arvense)	2,30	10.000	60	6	60
Bromus erectus Ruds. (Bromo eretto)	3,90	10.000	100	10	100
Bromus inermis Leyss. (Bromo inerme)	3,30	10.000	90	9	90
Cajanus cajan (L.) Millsp. (Pisello del tropico)	150,00	20.000	1000	300	1000
Camelina sativa (L.) Crantz (Camelina)	1,60	10.000	40	4	40
Cannabis sativa L. (Canapa)	20,00	10.000	600	60	600
Capsicum spp. (Peperone)	6,50	10.000	150	15	150
Carthamus tinctorius L. (Cartamo)	40,00	10.000	900	90	900
Carum carvi (Carvi)	3,00	10.000	200	8	80
Cicer arietinum L. (Cece)	45,00	20.000	1000	1000	1000
Cichorium endivia L. (Endivia e Scarola)	1,30	10.000	40	4	40
Cichorium intybus L. (Cicoria e Radicchio)	1,30	10.000	50	5	50
Citrullus lanatus (Thunb.) Matsumura et Nakai (= C. vulgaris Schrad.) (Cocomero)	100,00	20.000	1000	250	1000
Coriandrum sativum L. (Coriandolo)	12,00	10.000	400	40	400
Coronilla varia L. (Coronilla)	3,40	10.000	100	10	100
Cucumis melo L. (Melone)	30,00	10.000	150	70	150
Cucumis sativus L. (Cetriolo)	30,00	10.000	150	70	150
Cucurbita maxima Duch. (Zucca)	250,00	20.000	1000	700	1000
Cucurbita moschata (Duch.) Duch. ex poiret (Zucca torta)	250,00	20.000	350	180	350
Cucurbita pepo L. (Zucchino)	150,00	20.000	1000	700	1000
Cuminum cyminum L. (Cumino)	2,10	10.000	60	6	60
Cynara cardunculus L. (Cardo)	35,00	20.000	900	90	900

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Cynara scolymus L. (Carciofo)	55,00	20.000	1000	120	1000
Cynodon dactylon (L.) Pers. (Gramigna) . . .	0,25	10.000	25	1	10
Cynosurus cristatus L. (Coda di Cane)	0,55	10.000	25	2	20
Dactylis glomerata L. (Erba mazzolina)	1,10	10.000	100	3	30
Daucus carota L. (Carota).	0,85	10.000	30	3	30
Deschampsia caespitosa (L.) P. Beauv. (Aira cespitosa)	0,10	10.000	25	1	10
Deschampsia flexuosa (L.) Trin. (Aira flessuosa)	0,40	10.000	25	1	10
Dichondra repens Forst et G. Forst. (Dicondra)	2,20	10.000	50	5	50
Dolichos lablab L. (Fagiolo d'Egitto)	280,00	20.000	1000	600	1000
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv. (Giavone, miglio giapponese)	3,10	10.000	80	8	80
Eragrostis curvula (Schrader) C.G. Nees (Eragrostide curvula)	0,40	10.000	25	1	10
Eruca sativa Miller (Rucola).	1,60	10.000	40	4	40
Fagopyrum esculentum Moench (Grano saraceno)	20,00	10.000	600	60	600
Festuca arundinacea Schreber (Festuca arundinacea).	2,50	10.000	100	5	50
Festuca ovina L. sensulat., incl. F. tenuifolia Sibth. (Festuca ovina, varietà diverse e Festuca tenuifoglia).	0,90	10.000	100	3	30
Festuca pratensis Huds. (Festuca pratense) . . .	2,00	10.000	100	5	50
Festuca rubra L. (Festuca rossa) (varietà diverse)	1,20	10.000	100	3	30
Foeniculum vulgare Miller (Finocchio).	3,50	10.000	180	18	180
Fragaria vesca L. (varietà diverse) (Fragola) . .	0,35	10.000	10	1	10
Glycine max (L.) Merrill (Soia).	120-180	20.000	1000	500	1000
Gossypium spp. (Cotone)	125,000	20.000	1000	350	1000
Hedysarum coronarium L. (Frutto) (Sulla) . . .	9,00	10.000	1000	30	300
Hedysarum coronarium L. (Seme) (Sulla)	4,50	10.000	400	12	120
Helianthus annuus L. (Girasole)	80,00	20.000	1000	200	1000
Hibiscus cannabinus L. (Ibisco)	28,00	10.000	700	70	700
Hibiscus esculentus L. (Ocra)	75,00	20.000	1000	140	1000
Holcus lanatus L. (Erba bambagiona)	0,45	10.000	25	1	10
Hordeum vulgare L. (Orzo)	45,00	20.000	1000	120	1000
Humulus lupulus L. (Luppolo)	5,00	10.000	150	15	150
Lactuca sativa L. (Lattuga)	0,90	10.000	30	3	30

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Lagenaria siceraria (Mol.) Standl. (Lagenaria)	200,00	20.000	1000	500	1000
Lathirus cicera L. (Cicerchiella)	90.00	20.000	1000	140	1000
Lathyrus sativus L. (Cicerchia)	180,00	20.000	1000	450	1000
Lavandula spica L. (Lavanda)	1,00	10.000	25	2,5	25
Lens culinaris Medik. (Lenticchia)	50,00	10.000	600	60	600
Lepidium sativum L. (Agretto)	2,50	10.000	60	6	60
Lespedeza hedysaroides (Pall. Kitagawa) (= L. Juncea L. f.) (Lespedeza sericea o perenne) .	1,20	10.000	30	3	30
Lespedeza stipulacea Maxim. (Lespedeza della Corea)	2,00	10.000	50	5	50
Lespedeza striata (Thunb. ex Murray) Hook. et Arn. (Lespedeza comune)	2,00	10.000	40	4	40
Linum usitatissimum L. (Lino)	5-12.00	10.000	300	15	150
Lolium multiflorum Lam. (Loglio italico, L. comune e L. vestervoldico)	2,00	10.000	200	6	60
Lolium multiflorum Lam. x perenne L. (Loglio ibrido)	2,00	10.000	200	6	60
Lolium perenne L. (Loglio perenne)	2,00	10.000	200	6	60
Lotus corniculatus L. (Ginestrino)	1,20	10.000	200	3	30
Lotus uliginosus Schk. (Ginestrino palustre) . . .	0,55	10.000	25	2	20
Lupinus albus L. (Lupino bianco)	300-500,00	20.000	1000	450	1000
Lupinus angustifolius L. (Lupino azzurro)	150-200,00	20.000	1000	450	1000
Lupinus luteus L. (Lupino giallo)	120-180,00	20.000	1000	450	1000
Lycopersicon lycopersicum (L.) Karsten ex Farw. (= L. esculentum Mill.) (Pomodoro)	2,70	10.000	20	7	20
Matricaria chamomilla L. (Camomilla)	0,04	1.000	5	0,5	5
Medicago lupulina L. (Lupolina)	1,80	10.000	300	5	50
Medicago sativa L. (Erba medica)	2,00	10.000	300	5	50
Medicago x varia T. Martyn (Medica variegata)	2,00	10.000	300	5	50
Melilotus alba Medik. (Meliloto bianco) . . .	1,90	10.000	50	5	50
Melilotus officinalis (L.) Pall. (Meliloto giallo) .	1,90	10.000	50	5	50
Melissa officinalis L. (Melissa)	0,50	10.000	15	1,5	15
Nasturtium officinale R. Br. (Crescione d'acqua)	0,15	10.000	25	0,5	5
Nicotiana tabacum L. (Tabacco)	0,07	10.000	25	0,5	5

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Ocimum basilicum L. (Basilico)	1,40	10.000	40	4	40
Onobrychis viciifolia Scop. (Frutto) (Lupinella)	20,00	10.000	600	60	600
Onobrychis viciifolia Scop. (Seme) (Lupinella)	15,00	10.000	400	40	400
Origanum majorana L. (= Majorana hortensis Moench) (Maggiorana)	0,20	10.000	25	0,5	5
Origanum vulgare L. (Origano)	0,20	10.000	25	0,5	5
Ornithopus sativus Brot. (Serradella)	4,00	10.000	90	9	90
Oryza sativa L. (Riso)	28-45,00	20.000	1000	140	1000
Panicum miliaceum L. (Miglio)	5,30	10.000	150	15	150
Papaver somniferum L. (Papavero da oppio)	0,45	10.000	50	1	10
Pastinaca sativa L. (Pastinaca)	3,00	10.000	100	20	100
Pennisetum typhoides (Burm. f.) Stapf. et C. E. Hubb. (= P. glaucum L.R.Br.) (Miglio perlato)	5,00	10.000	150	15	150
Petroselinum crispum (Miller) Nyman ex A.W. Hill. (= P. hortense auct.) (Prezzemolo)	1,50	10.000	40	4	40
Phacelia tanacetifolia Benth. (Facelia)	2,00	10.000	40	5	40
Phalaris arundinacea L. (Falaride arundinacea)	0,80	10.000	30	3	30
Phalaris canariensis L. (Scagliola)	7,80	10.000	400	20	200
Phalaris stenoptera Hack. (= P. tuberosa L. var. stenoptera (Hack.) Hitchc.) (Falaride tuberosa)	1,30	10.000	40	4	40
Phaseolus angularis (Willd.) Wight (Fagiolo adzuki)	50,00	20.000	1000	250	1000
Phaseolus coccineus L. (Fagiolo di Spagna)	800-1400,00	20.000	1000	1000	1000
Phaseolus lunatus L., inc. P. Limensis Macfad. (Fagiolo di Lima)	600-900,00	20.000	1000	1000	1000
Phaseolus mungo L. (Fagiolo mungo)	20-80,00	20.000	1000	200	1000
Phaseolus radiatus. L. (P. aureus Roxb.) (Vigna radiata)	40,00	20.000	1000	120	1000
Phaseolus vulgaris L. (Fagiolo)	200-600,00	20.000	1000	700	1000
Phleum bertolonii DC. (Fleolo bulboso)	0,40	10.000	50	1	10
Phleum pratense L. (Fleolo)	0,40	10.000	50	1	10
Physalis pubescens L. (Alchechengio pubescente)	0,80	10.000	25	2	20
Pimpinella anisum L. (Anice)	3,00	10.000	70	7	70
Pisum sativum L. (varietà diverse) (Pisello e P. da foraggio)	200-300,00	20.000	1000	900	1000
Poa annua L. (Poa annua)	0,35	10.000	50	1	10
Poa bulbosa L. (Poa bulbosa)	1,20	10.000	30	3	30
Poa compressa L. (Poa compressa)	0,20	10.000	25	0,5	5
Poa nemoralis L. (Fienarola dei boschi)	0,15	10.000	50	0,5	5
Poa palustris L. (Fienarola delle paludi)	0,15	10.000	50	0,5	5
Poa pratensis L. (Erba fienarola)	0,25	10.000	50	1	10
Poa trivialis L. (Poa comune)	0,20	10.000	50	0,5	5
Raphanus sativus L. (Ravanello)	8,00	10.000	300	30	300

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

4. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Rheum rhaponticum L. (Rabarbaro)	15,00	10.000	450	45	450
Ricinus communis L. (Ricino)	300-700,00	20.000	1000	500	1000
Rosmarinus officinalis L. (Rosmarino)	1,00	10.000	30	3	30
Rumex acetosa L. (Acetosa)	0,85	10.000	30	3	30
Ruta graveolens L. (Ruta)	1,90	10.000	50	5	50
Salsola soda L. (Roscano)	10,00	10.000	250	25	250
Salvia officinalis L. (Salvia)	9,00	10.000	250	25	250
Sanguisorba minor Scop. (Pimpinella)	9,50	10.000	250	25	250
Satureja hortensis L. (Santoreggia)	0,80	10.000	20	2	20
Scorzonera hispanica L. (Scorzonera)	11,00	10.000	300	30	300
Secale cereale L. (Segale)	27,00	20.000	1000	120	1000
Sesamum indicum L. (Sesamo)	2,20	10.000	70	7	70
Setaria italica (L.) P. Beauv. (Panico)	2,70	10.000	90	9	90
Sinapis alba L. (Senape bianca)	6,00	10.000	400	20	200
Solanum melongena L. (Melanzana)	3,80	10.000	150	15	150
Sorghum almum Parodi (Sorgo almo)	7,00	10.000	200	20	200
Sorghum bicolor (L.) Moench (= S. vulgare Pers.) var. *diverse (Sorgo zuccherino e saggina)*	25,00	10.000	900	90	900
Sorghum halepense (L.) Pers. (Sorgagna)	3,60	10.000	90	9	90
Sorghum sudanense (Piper) Stapf (Sorgo gentile)	10,00	10.000	250	25	250
Spinacia oleracea L. (Spinacio)	11,00	10.000	250	25	250
Taraxacum officinale Wigg. (Tarassaco)	1,20	10.000	30	3	30
Tetragonia tetragonioides (Pall.) Kuntze. (= T. expansa Thunb. ex Murr.) (Spinacio della Nuova Zelanda)	75,00	20.000	1000	200	1000
Thymus vulgaris L. (Timo)	0,18	10.000	25	0,5	5
Tragopogon porrifolius L. (Scorzobianca)	15,00	10.000	400	40	400
Trifolium alexandrinum L. (Trifoglio alessandrino)	2,70	10.000	400	6	60
Trifolium campestre Schreb. (Trifoglio campestre)	0,34	10.000	25	0,5	5
Trifolium dubium Sibth. (Trifoglio filiforme)	0,45	10.000	25	2	20
Trifolium fragiferum L. (Trifoglio fragifero)	1,25	10.000	40	4	40
Trifolium hybridum L. (Trifoglio ibrido)	0,75	10.000	200	2	20
Trifolium incarnatum L. (Trifoglio incarnato)	3,30	10.000	500	8	80

Segue: ALLEGATO I-*A*

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Trifolium pratense L. (Trifoglio pratense)	1,60	10.000	300	5	50
Trifolium repens L. (Trifoglio bianco e T. ladino)	0,60	10.000	200	2	20
Trifolium resupinatum L. (Trifoglio resupinato).	0,80	10.000	200	2	20
Trifolium squarrosum L. (Trifoglio squarroso) .	5,50	10.000	150	15	150
Trifolium subterraneum L. (Trifoglio sotterraneo)	5,00	10.000	250	25	250
Trigonella foenum graecum L. (Fieno greco) . .	18,00	10.000	500	50	450
Trisetum flavescens (L.) P. Beauv. (Avena bionda)	0,5	10.000	50	0,5	5
Triticosecale Wittm. (Triticale).	47,00	20.000	1000	120	1000
Triticum aestivum L. emend. Fiori et Paoletti (Frumento tenero)	38,00	20.000	1000	120	1000
Triticum durum Desf. (Frumento duro)	50,00	20.000	1000	120	1000
Triticum spelta L. (Spelta).	55-105,00	20.000	1000	200	1000
Triticum turgidum L. (Frumento turgido)	28-70,00	20.000	1000	200	1000
Valeriana officinalis L. (Valeriana)	1,20	10.000	100	3	30
Valerianella locusta (L.) Laterrade (= V. olitoria L. Poll.) (Valeriancella).	2,00	10.000	70	7	70
Vicia ervilia (L.) Willd. (Vecciolo)	40,00	20.000	1000	120	1000
Vicia faba L. (Fava, Favetta e Favino)	400-2000,00	20.000	1000	1000	1000
Vicia narbonensis L. (Veccia di Narbona). . . .	220,00	20.000	1000	600	1000
Vicia pannonica Crantz (Veccia della Pannonia)	40,00	20.000	1000	120	1000
Vicia sativa L., incluso V. angustifolia L. (Veccia sativa e Veccia angustifoglia)	55,00	20.000	1000	140	1000
Vicia villosa Roth, incluso V. dasycarpa Ten. (Veccia vellutata e Veccia dasicarpa).	25,00	20.000	1000	100	1000
Vigna unguiculata (L.) Walpers (incl. V. Sinensis (L.) Savi ex Hassk.; Dolichos biflorus (L.) (Vigna cinese e Fagiolo dall'occhio)	60-160,00	20.000	1000	400	1000
Zea mays L. (Mais) (varietà diverse).	100-500,00	40.000	1000	900	1000

Colonna 3 - Per le specie per le quali sono richieste determinazioni particolari (per es.: numero di semi di specie dannose, numero di cariossidi rosse nel riso, umidità) e nel caso di miscugli, il peso minimo del campione medio di prelevamento non deve essere inferiore a quello indicato nelle apposite sezioni.

Colonna 5 - I pesi minimi indicati non si applicano nel caso della ricerca semi di specie estranee o dannose per i quali norme legislative e regolamentari prevedono l'assenza o la limitazione in numero. Per queste determinazioni si devono osservare le direttive date nella sezione 4.2.

ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Agropyron cristatum (L.) Gaertn.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Agropyron desertorum (Fisch. ex Link) Schult	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. KNO_3
Agropyron trachycaulum (Link) Malte ex H. Lewis	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Agrostis canina L.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Agrostis capillaris L. (= A. tenuis sibth.)	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Agrostis gigantea Roth	C	s	20-30	L	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Agrostis stolonifera L. (incl A. palustris Huds.)	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Allium cepa L.	C	m	20	—	6	12	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Allium porrum L.	C	m	20	—	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Allium schoenoprasum L.	C	m	20	—	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Alopecurus pratensis L.	C	s	20-30	L	7	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Anethum graveolens L.	TC	s	20-30	—	7	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Angelica archangelica L.	TC	s	20-30	—	7	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Anthoxanthum odoratum L.	C	s	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm.	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Anthyllis vulneraria L.	C	m	20	—	5	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C
Apium graveolens L.	C	s	20-30	L	10	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3
Arachis hypogaea L.	S	m	20-30	—	—	10	Rimuovere i gusci, preriscaldamento a 40°C fino a 14 gg. - Prova a 25°C - Luce
Arrhenatherum elatius (L.) P. Beauv. ex J.S. et K.B. Presl	C	m	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Asparagus officinalis L.	SS	s	20-30	—	10	28	Preref. + 5°C per 5 gg.
Atriplex hortensis L.	TC	s	20-30	—	7	28	Prova a 10°C
Atropa belladonna L.	C	m	20-30	L	12	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3
Avena byzantina K. Koch	S	m	20	—	5	10	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce - KNO_3 - GA_3 - Prova a 10°C o 15°C
Avena sativa L.	S	m	20	—	5	10	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce - KNO_3 - GA_3 - Prova a 10°C o 15°C
Barbarea verna (Mill.) Ascher	C	m	20-30	—	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - KNO_3 - Luce
Beta vulgaris L., varietà diverse	CP	s	20	—	4	14	Prelavaggio dei semi per 2-4 ore in H_2O a + 25°C, SS; prova a 20-30°C
Borago officinalis L.	C	m	20	L	7	21	—
Brassica chinensis L.	C	m	20-30	—	3	7	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - Prova a 20°C - Luce
Brassica juncea (L.) Czernj. et Cosson	C	m	20	L	3	7	Preref. + 10°C per 7 gg. - KNO_3

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Sub-strati	Umi-dità	Tempe-rature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Brassica napus L.	C	m	20	—	3	10	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - Luce
Brassica napus L. var. napobrassica (L.) Reichb.	C	m	20	—	3	14	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - Luce
Brassica nigra (L.) Koch	C	m	20	L	3	10	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - KNO_3
Brassica oleracea L. (varietà diverse)	C	m	20	—	3	10	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - KNO_3 - Luce
Brassica pekinensis (Lour.) Rupr.	C	m	20-30	—	3	7	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - Prova a 20°C - KNO_3 - Luce
Brassica rapa L. incl B. campestris L. subsp. oleifera D.C.	C	m	20	—	3	7	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - KNO_3 - Luce
Bromus arvensis L.	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Bromus erectus Ruds.	C	m	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Bromus inermis Leyss.	C	m	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Cajanus cajan (L.) Millsp.	S	m	20-30	—	4	10	—
Camelina sativa (L.) Crantz	C	m	20-30	L	4	10	—
Cannabis sativa L.	C	m	20-30	—	3	7	—
Capsicum spp.	C	m	20-30	—	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3 - Luce
Carthamus tinctorius L.	S	m	25	L	4	14	Prova 20-30°C
Carum carvi L.	C	s	20-30	L	7	21	—
Cicer arietinum L.	S	e	20	—	—	8	Luce
Cichorium endivia L.	C	m	20-30	L	4	14	Umidità elevata all'inizio della prova - KNO_3 - Prova a 20°C
Cichorium intybus L.	C	m	20-30	L	4	14	Umidità elevata all'inizio della prova - KNO_3 - Prova a 20°C
Citrullus lanatus (Thunb.) Matsumura et Nakai (= C. vulgaris Schrad.)	S	s	20-30	—	4	14	Prelavaggio per 6 ore - Prova a 25°C - Luce
Coriandrum sativum L.	S	s	20	—	7	21	Prova a 20-30°C - TC - Luce
Coronilla varia L.	C	m	20	—	7	14	Prova a 25°C - Luce
Cucumis melo L.	S	s	20-30	—	4	8	Prova a 25°C - Luce
Cucumis sativus L.	S	s	20-30	—	4	8	Prova a 25°C - Luce
Cucurbita maxima Duch.	S	m	20-30	—	4	8	Prova a 25°C - Luce
Cucurbita moschata (Duch.) Duch. ex Poiret	S	m	20-30	—	4	8	Prova a 25°C - Luce
Cucurbita pepo L.	S	m	20-30	—	4	8	Prova a 25°C - Luce
Cuminum cyminum L.	C	m	20-30	L	5	14	—
Cynara cardunculus L.	SS	m	20-30	—	7	21	Prelavaggio per 6 ore

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Cynara scolymus L.	SS	m	20-30	—	7	21	Prelavaggio per 6 ore
Cynodon dactylon (L.) Pers.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 - Prova a 20-35°C
Cynosurus cristatus L.	C	m	20-30	L	10	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Dactylis glomerata L.	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Daucus carota L.	C	s	20-30	—	7	14	Prova a 20°C - Luce
Deschampsia caespitosa (L.) P. Beauv.	C	s	20-30	L	7	16	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Deschampsia flexuosa (L.) Trin.	C	m	20-30	L	7	16	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Dichondra repens (Forst. et G. Forst.)	C	m	20-30	—	7	21	—
Dolichos lablab L.	S	s	25	—	4	10	Prova 20-30°C - Luce
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv.	C	m	25	—	4	10	—
Eragrostis curvula (Schrader) Nees	C	m	15-30	L	6	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Eruca sativa Miller	C	m	20	—	4	7	—
Fagopyrum esculentum Moench	C	e	20-30	—	4	7	—
Festuca arundinacea Schreber	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Festuca ovina L. (varietà diverse; incl. F. tenuifolia Sibth.)	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 Preessiccamento
Festuca pratensis Huds.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Festuca rubra L. (varietà diverse)	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Foeniculum vulgare Miller	SS	s	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prova a 20°C - TC
Fragaria vesca L. (varietà diverse)	C	m	20	L	7	28	—
Glycine max (L.) Merrill	S	m	25	—	5	8	Prova a 20-30°C - Luce
Gossypium L. spp.	S	e	20-30	—	4	12	Imbibire completamente la bambagia ed asportare l'eccesso di acqua - Luce
Hedysarum coronarium L. (frutto)	C	s	20	—	5	12	S - Luce
Hedysarum coronarium L. (Seme)	C	s	20	—	5	12	S - Luce
Helianthus annuus L.	S	m	20-30	—	3	7	Preref. + 5°C per 3 gg. Preessiccamento - Prova a 25°C - Luce
Hibiscus cannabinus L.	CP	m	20-30	—	4	8	—
Hibiscus esculentus L.	CP	m	20-30	—	4	21	—
Holcus lanatus L.	C	s	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Hordeum vulgare L.	C	m	20	L	4	7	Preref. + 5°C per 2 gg. - Preessiccamento; GA_3 - KNO_3 - S - TC
Humulus lupulus L.	CP	m	20	—	7	28	Prova a 10°C
Lactuca sativa L.	C	s	20	L	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - Preessiccamento
Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.	S	e	20-30	—	4	8	Prelavaggio

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Lathyrus cicera L.	S	m	20	—	4	8	Luce
Lathyrus sativus L.	S	m	20	—	4	8	Luce
Lavandula spica L.	C	s	20-30	L	7	35	Preref. + 5°C per 2 gg.
Lens culinaris Medik.	TC	m	20	—	5	10	Preref. + 5°C per 2 gg. S - Luce
Lepidium sativum L.	C	m	20	—	4	10	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prova a 20-30°C
Lespedeza hedysaroides (Pall. Kitagawa) = L. juncea (L.f.) Pers.	CP	m	20-35	—	7	21	—
Lespedeza stipulacea Maxim.	CP	m	20-35	—	5	14	—
Lespedeza striata (Thunb. ex Murr.) Hook. et Arn.	CP	m	20-35	—	7	14	—
Linum usitatissimum L.	C	m	20	—	3	7	Preref. + 5°C per 2 gg. - Preessiccamento
Lolium multiflorum Lam.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - Prova a 15-25°C
Lolium multiflorum Lam. x perenne L.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - Prova a 15-25°C
Lolium perenne L.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - Prova a 15-25°C
Lotus corniculatus L.	C	s	20	—	4	12	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Lotus uliginosus Schk.	C	s	20	—	4	12	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Lupinus albus L.	S	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Lupinus angustifolius L.	S	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Lupinus luteus L.	S	m	20	—	10	21	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Lycopersicon lycopersicum (L.) Karsten ex Farw. (= L. esculentum Mill.)	C	m	20-30	L	5	14	KNO_3
Matricaria chamomilla L.	C	m	20-30	—	5	14	Luce
Medicago lupulina L.	C	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Medicago sativa L.	C	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Medicago x varia T. Martyn	C	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Melilotus alba Medik.	C	m	20	—	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Melilotus officinalis (L.) Pall.	C	m	20	—	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Melissa officinalis L.	C	m	20-30	L	6	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - Prova a 20°C
Nasturtium officinale R. Br.	C	m	20-30	—	4	14	Prova a 10-30°C - Luce
Nicotiana tabacum L.	C	s	20-30	L	7	16	—
Ocimum basilicum L.	C	m	20-30	—	4	14	KNO_3 - Luce
Onobrychis viciifolia Scop. (Frutto)	S	s	20	—	4	14	Preref. + 10°C per 2 gg. - C - Luce
Onobrychis viciifolia Scop. (Seme)	S	s	20	—	4	14	Preref. + 10°C per 2 gg. - C - Luce

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Sub-strati	Umi-dità	Tempe-rature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Origanum majorana L.	C	m	20	L	7	21	Prova a 15°C al buio - conteggio finale dopo 28 gg.
Origanum vulgare L.	C	m	20	—	7	21	Prova a 15°C
Ornithopus sativus Brot.	C	m	20	—	7	14	—
Oryza sativa L.	C	e	20-30	—	7	14	Prova a 25°C - Prelavaggio a 40°C da 24 a 48 ore - Luce
Panicum miliaceum L.	C	m	25	—	3	7	Prova a 20-30°C - Luce
Papaver somniferum L.	C	s	20	—	3	10	Preref. + 5°C per 2 gg. - L. - Prova a 10-30°C
Pastinaca sativa L.	C	s	20-30	—	6	28	Luce
Pennisetum typhoides (Brum. f.) stapf. et C.E. Hubb. (= P. glaucum L.R. Br.)	TC	m	20-30	—	3	7	—
Petroselinum crispum (Hiller) Nyman. ex A.W. Hill. (= P. hortense auct.)	C	s	20-30	—	10	28	Preref. + 10°C per 4-5 gg. - Luce - TC
Phacelia tanacetifolia Benth.	C	m	20-30	—	5	14	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C
Phalaris arundinacea L.	C	m	20-30	L	5	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3
Phalaris canariensis L.	C	m	20-30	—	7	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Phalaris stenoptera Hack. (= P. tuberosa L. var. stenoptera (Hack.) Hitchc.)	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3
Phaseolus angularis (Willd.) Wight	S	m	20-30	—	4	10	Prova a 25°C - Luce
Phaseolus coccineus L.	S	e	20	—	5	9	Preimbibizione per 24 h. a + 25°C - Prova a 20-30°C - Luce
Phaseolus lunatus L. incl. P. limensis Macfad.	S	e	20-30	—	5	9	Preimbibizione per 24 h. a + 25°C - Luce
Phaseolus mungo L.	S	m	20	—	4	7	Prova a 20-30°C - Luce
Phaseolus radiatus L. (= P. aureus Roxb.)	S	m	20-30	—	3	7	Luce
Phaseolus vulgaris L.	S	m	20	—	5	9	Prova a 25°C - Luce
Phleum bertolonii DC.	C	s	20-30	L	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Phleum pratense L.	C	s	20-30	L	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Physalis pubescens L.	C	m	20-30	L	7	28	KNO_3
Pimpinella anisum L.	C	s	20-30	—	7	21	Luce diffusa
Pisum sativum L. (varietà diverse)	S	m	20	—	5	8	Luce diffusa
Poa annua L.	C	s	15-25	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 - Prova a 20-30°C
Poa bulbosa L.	C	s	15-25	L	10	35	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 - Prova a + 10°C
Poa compressa L.	C	s	15-30	L	10	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Poa nemoralis L.	C	s	15-25	L	10	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Poa palustris L.	C	s	15-25	L	10	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3
Poa pratensis L.	C	s	15-25	L	10	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 - Prova a 20-30°C

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

4 SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Sub-strati	Umi-dità	Tempe-rature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Poa trivialis L	C	s	15-25	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO_3 - Prova 20-30°C
Raphanus sativus L.	C	m	20	—	4	6	Preref. + 5°C per 2 gg. - S - Luce
Rheum rhaponticum L.	C	e	20-30	L	7	21	—
Ricinus communis L	S	e	20-30	—	7	14	Prova a 25°C - TC - Luce
Rosmarinus officinalis L	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 3-4 gg. - Prova a 10-30°C - KNO_3
Rumex acetosa L	C	m	20-30	L	3	14	Preref. + 5°C per 2 gg.
Ruta graveolens L	TC	m	20	L	7	28	Preref. + 5°C per 3-4 gg. - Prova a 15°C
Salsola soda L	S	m	20	—	7	21	Luce
Salvia officinalis L.	C	s	20-30	—	7	21	Preref. + 10°C per 2 gg.
Sanguisorba minor Scop.	TC	m	20	—	7	21	Prova a 15°C
Satureja hortensis L.	C	m	20-30	—	5	21	—
Scorzonera hispanica L.	TC	m	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg.
Secale cereale L.	S	m	20	L	4	7	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO_3 - Prova a 15°C - GA_3 - Preessiccamento - TC
Sesamum indicum L.	C	m	20-30	—	3	6	—
Setaria italica (L.) P. Beauv.	TC	m	20-30	—	4	10	—
Sinapis alba L	C	m	20	—	3	7	Preref. + 5°C per 2 gg.
Solanum melongena L.	C	m	20-30	L	7	14	Preref. + 10°C per 3 gg. - KNO_3
Sorghum almum Parodi	C	s	20-30	—	5	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - al 10 giorno tagliare l'estremità distale dei semi non germinati - TC
Sorghum bicolor (L.) Moench (= S. vulgare Pers.) (varietà diverse)	C	s	20-30	—	4	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - TC
Sorghum halepense (L.) Pers.	C	m	20-30	L	7	35	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - TC - KNO_3
Sorghum sudanense (Piper) Stapf	C	m	20-30	—	4	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - TC
Spinacia oleracea L.	C	s	15	—	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - TC
Taraxacum officinale Wigg.	C	m	20	—	7	21	—
Tetragonia tetragonioides (Pall.) Ktze. (= T. expansa Thunb ex Murr.)	SS	s	20-30	—	5	35	Prelavaggio in H_2O a 28°C per 6 h. - Prova a 15°C in CP rimuovendo la polpa
Thymus vulgaris L	C	s	20	—	7	21	—
Tragopogon porrifolius L.	TC	m	20	—	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Trifolium alexandrinum L.	C	m	20	—	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium campestre Schreb.	C	s	20	—	4	14	Prova a 15°C - Luce
Trifolium dubium Sibth.	C	s	20	—	5	14	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a + 10° o + 15°C - Luce
Trifolium fragiferum L.	C	s	20	—	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium hybridum L.	C	s	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C - Luce

Segue: ALLEGATO II-*A*

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Trifolium incarnatum L.	C	s	20	—	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C - Luce
Trifolium pratense L.	C	m	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C - Luce
Trifolium repens L.	C	s	20	—	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C - Luce
Trifolium resupinatum L.	C	m	20	—	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium squarrosum L.	C	m	20	—	4	14	Preref. + 10°C per 4-5 gg. - Prova a 15°C - Luce
Trifolium subterraneum L.	C	m	15	—	4	14	Al buio
Trigonella foenum-graecum L.	C	m	20	—	5	14	—
Trisetum flavescens (L.) P. Beauv.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Triticosecale Wittm.	C	m	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. - GA_3 - Luce - S
Triticum aestivum L. emend. Fiori et Paoletti	C	e	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. - GA_3 - Luce
Triticum durum Desf.	C	m	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. - GA_3 - Luce - S
Triticum spelta L.	S	m	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. - GA_3 - Luce
Triticum turgidum L.	S	m	20	—	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. - GA_3 - Luce
Valeriana officinalis L.	C	s	20	—	7	21	Preref. + 10°C per 4 gg. - Prova a 15°C - TC
Valerianella locusta (L.) Laterrade (= V. olitoria L. Poll.)	C	s	20	—	7	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prova a 15°C - TC
Vicia ervilia (L.) Willd.	S	m	20	—	5	8	Luce
Vicia faba L.	S	m	20	—	4	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prelevaggio per 24 ore - Luce
Vicia narbonensis L.	S	m	20	—	5	8	Luce
Vicia pannonica Crantz.	S	m	20	—	—	10	Luce
Vicia sativa L. (incl. V. angustifolia L.)	S	m	20	—	—	14	Luce
Vicia villosa Roth (incl. V. dasycarpa Ten.)	S	m	20	—	5	14	SS
Vigna unguiculata (L.) Walpers incl. V. sinensis (L.) Savi ex Hassk.; Dolichos biflorus L.	S	m	20-30	—	5	8	Prova a 25°C - Luce
Zea mays L. (varietà diverse)	S	e	20-30	—	—	7	Prova a 25°C - Luce

Colonna 1 - Per i nomi volgari vedi colonna 1, allegato I-A.

Colonna 2 - La lettera C significa: semi su carta da filtro; TC: semi tra due carte da filtro; CP: semi in carta da filtro pieghettata; S: semi in sabbia; SS: semi su sabbia.
Le caratteristiche dei substrati e dei germinatoi sono precisate nelle sezioni 5.3.1. e 5.5.1.

Colonna 3 - La lettera «e» significa che occorre dare al substrato il grado di umidità elevato, «m» il grado medio, «s» quello scarso, come definiti nella sezione 5.5.1.

Colonna 4 - Un solo numero significa costanza di temperature, due numeri separati da una lineetta alternanza giornaliera di temperatura (8 ore per la più elevata, 16 ore per la più bassa). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 5 - La lettera L significa che la luce è necessaria (250-500 lux per i semi di specie erbacee, 750-1250 lux per quelli di specie arboree e arbustive, per un periodo approssimativo di 8 ore giornaliere). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 6 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione (sezione 5.5.2.) in cui deve essere eseguita la 1ª conta.

Colonna 7 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione e di post-prerefrigerazione (sez. 5.5.3.) in cui deve essere eseguita la conta finale; ovvero indicano il numero di giorni di durata della prova.
In determinati casi la conta finale può essere eseguita con un ritardo di 7 giorni (vedi sezione 5.5.3.).

Colonna 8 - In questa colonna si richiamano le condizioni particolari che, in aggiunta a quelle generali, possono essere adottate per la germinazione dei semi di alcune specie o gruppi di specie e qualora, al termine della prova di germinazione, vi siano semi dormienti. Vedi sezione 5.5.2.

ALLEGATO I-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Abies alba Mill. (Abete bianco)	30-60	1.000	240	120
Abies cephalonica Loud. (Abete greco)	40-80	1.000	360	180
Abies nordmanniana (Steven) Spach. (Abete del Caucaso)	45-90	1.000	320	160
Abies pinsapo Boiss. (Abete di Spagna)	45-90	1.000	320	160
Acacia spp. (Acacie)	10-20	1.000	70	35
Acer campestre L. (Acero campestre)	50-100	1.000	200	100
Acer negundo L. (Acero americano)	30-60	1.000	200	100
Acer opalus Mill. (Acero fico)	60-140	1.000	200	100
Acer platanoides L. (Acero riccio)	100-400	1.000	900	450
Acer pseudoplatanus L. (Acero montano)	60-180	1.000	400	200
Aesculus hippocastanum L. (Ippocastano)	4.000-30.000	5.000	semi 500	semi 500
Ailanthus glandulosa Desf. (Ailanto)	20-35	1.000	160	80
Alnus cordata (Lois.) Duby (Ontano napoletano)	2-3	1.000	25	6
Alnus glutinosa (L.) Gaertn. (Ontano nero)	0,7-1,5	1.000	25	4
Alnus incana (L.) Moench. (Ontano bianco)	0,5-1	1.000	15	2
Amorpha fruticosa L. (Falso indaco)	6-12	1.000	50	12,5
Betula pendula Roth (Betulla)	0,1-0,3	1.000	15	0,5
Carpinus betulus L. (Carpino bianco)	30-60	1.000	500	250
Castanea sativa Mill. (Castagno)	5.000-15.000	5.000	semi 500	semi 500
Catalpa spp. (Catalpe)	10-45	1.000	120	60
Cedrus atlantica (Endl.) Manetti ex Carriere (Cedro dell'Atlante)	50-90	1.000	400	200
Cedrus deodara (D. Don) G. Don (Cedro dell'Himalaia)	80-200	1.000	600	300
Cedrus libani A. Rich. (Cedro del Libano)	60-150	1.000	400	200
Celtis australis L. (Bagolaro)	100-350	1.000	500	250
Chamaecyparis lawsoniana (A. Murray) Parl. (Cipresso di Lawson)	1-3	1.000	20	6
Chamaecyparis thyoides (L.) B.S.P.	0,8-1	1.000	10	3
Cornus mas L. (Corniolo)	150-300	1.000	800	400
Cornus sanguinea L.	60	1.000	300	150
Corylus avellana L. (Nocciolo)	800-3.500	5.000	1.000	500
Cotoneaster spp. (Cotognastri)	8	1.000	40	20

Segue: ALLEGATO I-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Crataegus monogyna Jacq. (Biancospino)	40-70	1.000	280	140
Cryptomeria japonica (L.f.) D. Don (Crittomeria) .	1,5-4	1.000	25	10
Cupressus arizonica E. Greene (Cipresso dell'Arizona)	7-12	1.000	60	30
Cupressus macrocarpa Hartw. (Cipresso di Monterey)	4-9	1.000	40	20
Cupressus sempervirens L. (Cipresso comune). . . .	5-11	1.000	40	20
Cytisus scoparius (L.) Link. (Ginestra dei carbonai)	5-10	1.000	40	20
Elaeagnus angustifolia L. (Eleagno).	90	1.000	800	400
Eucalyptus globulus Labill. (Eucalitto globolo) . . .	2,5-5	1.000	60	20
Eucalyptus spp. a semi piccolissimi (Eucalitti). . . .	0,2-0,5	1.000	5	0,5
Euonymus europaea L. (Evonimo)	35-50	1.000	200	100
Fagus sylvatica L. (Faggio)	150-300	1.000	1.000	500
Fraxinus excelsior L. (Frassino maggiore)	40-120	1.000	400	200
Fraxinus ornus L. (Orniello).	20-35	1.000	200	100
Genista aetnensis DC. (Ginestra dell'Etna)	6-12	1.000	50	25
Gleditsia triacanthos L. (Spino di Giuda)	120-260	1.000	800	400
Juniperus communis (Ginepro comune).	—	1.000	300	150
Juniperus scopulorum Sarg.	—	1.000	70	35
Juniperus virginiana L. (Ginepro di Virginia)	—	1.000	100	50
Laburnum alpinum (Mill.) Bercht.et J. S. Presl. (Citiso alpino)	20-30	1.000	140	70
Laburnum anagyroides Medik (Maggiociondolo) . .	20-35	1.000	140	70
Larix decidua Mill. (Larice europeo)	3-10	1.000	25	10
Larix X eurolepis A. Henry (Larice euro-giapponese)	3-9	1.000	25	10
Larix leptolepis (Sieb. et Zucc.) Sieb. ex Gord. (Larice giapponese)	3-8	1.000	25	10
Libocedrus decurrens Torr. (Libocedro)	16-70	1.000	160	80
Ligustrum vulgare L. (Ligustro).	25	1.000	100	50
Liriodendron tulipifera L. (Liriodendro)	35-75	1.000	180	90
Malus spp. (Meli)	15-70	1.000	50	25
Morus spp. (Gelsi)	1-4	1.000	20	5
Ostrya carpinifolia Scop. (Carpino nero).	3-10	1.000	50	25

Segue: ALLEGATO I-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Picea abies (L.) Karst. (Abete rosso)	4-10	1.000	40	20
Picea engelmannii C. Parry ex Engelm. (Picea di Engelmann)	2-7	1.000	25	9
Picea pungens Engelm. (Picea pungente)	2-6	1.000	30	15
Picea sitchensis (Bong.) Carr. (Picea di Sikta)	1-3	1.000	25	6
Pinus brutia Ten. (Pino bruzio)	30-70	1.000	200	100
Pinus canariensis C. Smith (Pino delle Canarie)	90-130	1.000	60	30
Pinus cembra L. (Pino cembro)	200-320	1.000	1.000	700
Pinus coulteri D. Don	250-350	1.000	1.000	900
Pinus excelsa Wall. (Pino eccelso)	30-60	1.000	200	100
Pinus halepensis Mill. (Pino d'Aleppo)	10-20	1.000	100	50
Pinus heldreichii Christ.	15-25	1.000	120	60
Pinus jeffreyi Grev. et Balf.	90-200	1.000	600	300
Pinus koraiensis Sieb. et Zucc.	500-650	1.000	2.000	1.000
Pinus lambertiana Dougl.	175-300	1.000	1.000	500
Pinus monticola Dougl. ex D. Don	15-30	1.000	90	45
Pinus mugo Turra (Pino montano)	4-10	1.000	40	20
Pinus nigra Arnold (Pino nero e laricio)	10-30	1.000	100	50
Pinus parviflora Sieb. et Zucc.	110-150	1.000	500	250
Pinus peuce Griseb.	30-45	1.000	240	120
Pinus pinaster Ait. (Pino marittimo)	30-70	1.000	240	120
Pinus pinea L. (Pino domestico)	500-1.100	1.000	1.000	1.000
Pinus pumila (Pallas) Reg.	—	1.000	40	20
Pinus radiata D. Don (Pino insigne)	20-35	1.000	160	80
Pinus strobus L. (Pino strobo)	8-24	1.000	90	45
Pinus sylvestris L. (Pino silvestre)	4-9	1.000	40	20
Platanus spp. (Platani)	2-5	1.000	25	6
Populus spp. (Pioppi)	0,01-2,20	1.000	5	2
Prunus avium (L.) (Ciliegio)	100-300	1.000	900	450
Pseudotsuga menziesii (Mirbel) Franco (Abete di Douglas)	6-20	1.000	60	30
Pyrus spp. (Peri)	15-45	1.000	180	90

Segue: ALLEGATO 1-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Quercus spp. (Querce)	1.500-8.000	5.000	semi 500	semi 500
Robinia pseudoacacia L. (Robinia)	12-28	1.000	100	50
Rosa spp. (Rose)	2-9	1.000	50	25
Salix spp. (Salici)	0,10-0,30	1.000	5	2
Sequoia sempervirens Endl. (Sequoia sempreverde)	1,5-8	1.000	25	12
Sophora japonica L. (Sofora)	90-180	1.000	500	200
Sorbus aucuparia L. (Sorbo degli uccellatori)	2-5	1.000	25	10
Spartium junceum L. (Ginestra di Spagna)	10-15	1.000	40	20
Syringa vulgaris L. (Lillà)	3-9	1.000	30	15
Taxodium distichum (L.) Rich. (Cipresso calvo)	50-200	1.000	500	250
Taxus baccata L. (Tasso)	50-80	1.000	320	160
Thuja occidentalis L. (Tuia occidentale)	0,5-2,5	1.000	25	4
Thuja orientalis L. (Tuia orientale)	10-20	1.000	120	60
Thuja plicata Donn ex D. Don	0,5-2	1.000	10	3
Tilia cordata Mill. (Tiglio selvatico)	25-50	1.000	180	90
Tilia platyphillos Scop. (Tiglio nostrale)	100-150	1.000	500	250
Tilia tomentosa Moench. (Tiglio argentato)	70-110	1.000	300	150
Ulmus spp. (Olmi)	3-15	1.000	30	15

ALLEGATO II-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

A. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Abies spp.	C	m	20-30	L	7	28	Preref. + 3-5°C per 21 gg.	+
Acacia spp.	C	m	20	L	7	21	Rimozione di 1 mm² di tegumento dalla parte opposta alla radichetta - Preimbibizione per 3 h.	
Acer spp.	C	m	20	—	7	28	Preref. a 1-5°C per 2 mesi - Rimuovere il pericarpo	++
Aesculus hippocastanum	S	e	20-30	—	7	21	Immersione in acqua per 48 ore, successiva asportazione del terzo inferiore	
Ailanthus glandulosa	C	m	20-30	—	7	28	Rimozione completa del pericarpo dal seme secco (1 unità di g 0,05)	
Alnus spp.	C	m	20-30	L	7	28	—	
Amorpha fruticosa	C	m	20-30	L	7	21	Per alcuni campioni è consigliabile rimuovere il legume secco ed asportare 1 mm² di tegumento dalla parte opposta alla radichetta	
Betula spp.	C	m	20-30	L	7	21	—	
Carpinus betulus	S	e	20	—	14	42	Mettere in substrato umido a 20°C per 1 mese, successivamente a 3-5°C per 4 mesi	++
Castanea sativa	S	e	20-30	—	7	21	Immersione in acqua per 48 ore, successiva asportazione del terzo inferiore e rimozione del pericarpo	
Catalpa spp.	C	m	20-30	—	7	21	—	
Cedrus spp.	C	m	20	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Celtis australis	—	—	—	—	—	—	—	+++
Chamaecyparis spp.	C	m	20-30	—	7	28	—	
Chamaecyparis thyoides	C	m	20	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 90 gg.	++
Cornus mas	—	—	—	—	—	—	—	+++
Cornus sanguinea	—	—	—	—	—	—	—	+++
Corylus spp.	S	e	20	—	28	70	Preref. a 3-5°C per 2 mesi previa asportazione del pericarpo	++
Cotoneaster spp.	—	—	—	—	—	—	—	+++
Crataegus spp.	S	e	20-30	—	7	28	Mettere in substrato umido a 25°C per 3 mesi, successivamente a 3-5°C per 9 mesi	++
Cryptomeria japonica	C	m	20-30	—	7	28	—	
Cupressus arizonica	C	m	20-30	—	7	35	—	
Cupressus macrocarpa	C	m	20-30	L	14	35	—	
Cupressus sempervirens	C	m	20	L	7	28	—	
Citysus scoparius	C	m	20-30	—	7	28	Come Acacia spp.	
Elaeagnus angustifolia	—	—	—	—	—	—	—	+++
Eucalyptus globulus	C	m	25	L	7	28	—	
Eucalyptus spp. (a semi piccoli)	C	m	20-30	—	7	21	—	
Euonymus europaea	C	m	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 45 gg.	++
Fagus sylvatica	C	m	4	—	—	—	La durata dell'analisi dipende dalla dormienza e in alcuni casi essa può richiedere anche 24 settimane	+

Segue ALLEGATO II-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

A. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE	Sub-strati	Umi-dità	Tempe-rature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Fraxinus spp.	C	m	20-30	—	14	56	Mettere in substrato umido a 20°C per 2 mesi, successivamente a 3-5°C per 7 mesi	+ +
Genista aetnensis	C	m	20	—	7	28	Come Acacia spp.	
Gleditsia triacanthos	C	m	20	—	14	35	Rimozione di 6-8 mm² di tegumento dalla parte opposta alla radichetta e successiva immersione in acqua per 4 ore a 30°C	
Juniperus communis	C	m	20	L	14	28	Preref. a 3-5°C per 90 gg.	+ +
Juniperus scopulorum	C	m	15	—	14	42	Mettere in substrato umido a 20°C per 60 gg., successivamente a 3-5°C per 40 gg.	+ +
Juniperus virginiana	C	m	15	—	14	28	Mettere in substrato umido a 20°C per 60 gg., successivamente a 3-5°C per 45 gg.	+ +
Laburnum alpinum	C	m	20-30	—	7	28	Come Acacia spp.	
Laburnum anagyroides	C	m	20-30	—	7	14	Come Acacia spp.	
Larix decidua e eurolepis	C	m	20-30	L	7	21	—	
Larix leptolepis	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Libocedrus decurrens	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 28 gg.	+
Ligustrum vulgare	—	—	—	—	—	—	—	+ + +
Liriodendron tulipifera	C	m	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 60 gg.	+ +
Malus spp.	—	—	—	—	—	—	—	+ + +
Morus spp.	C	m	20-30	L	14	28	—	
Ostrya carpinifolia	—	—	—	—	—	—	—	+ + +
Picea abies, engelmannii e pungens	C	m	20-30	L	7	21	—	
Picea sitchensis	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Pinus brutia	C	m	20	L	7	28	—	
Pinus canariensis e P. excelsa	C	m	20-30	L	7	28	—	
Pinus cembra	—	—	—	—	—	—	—	+ + +
Pinus coulteri	S	e	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 60-90 gg.	+ +
Pinus halepensis	C	e	20	L	7	28	—	
Pinus heldreichii	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 42 gg.	+ +
Pinus koraiensis	S	e	20-30	—	7	28	Mettere in substrato umido a 25°C per 2 mesi, successivamente a 3-5°C per 3 mesi	+ +
Pinus jeffreyi	C	m	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 28 gg.	+
Pinus lambertiana	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 60-90 gg.	+ +
Pinus monticola	C	m	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 60-90 gg.	+ +
Pinus mugo	C	m	20-30	L	7	21	—	
Pinus nigra	C	m	20-30	L	7	14	—	
Pinus parviflora	S	e	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 6-9 mesi	+ +
Pinus peuce	—	—	—	—	—	—	—	+ + +
Pinus pumila	S	e	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 4 mesi	+ +
Pinus pinaster	C	m	20	L	7	35	Preref. a 3-5°C per 35 gg. nel caso di provenienze atlantiche - Luce non più di 8 ore al giorno	

Segue: ALLEGATO II-*B*

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

A. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Pinus pinea	C	m	20	—	7	28	Immersione in acqua per 48 ore prima della prova di germinazione	
Pinus radiata	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 7 gg.	
Pinus sylvestris	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Pinus strobus	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 28 gg.	+
Platanus spp.	C	m	20-30	L	7	28	—	
Populus spp.	C	m	20-30	L	3	10	—	
Prunus spp.	S	e	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 3-4 mesi	++
Pseudotsuga menziesii	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Pyrus spp.	S	e	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 3-4 mesi	++
Quercus spp.	S	c	20		7	28	Immersione in acqua per 4-8 ore, successiva asportazione del terzo inferiore e rimozione del pericarpo	
Robinia pseudoacacia	C	m	20-30	L	7	14	Come Acacia spp.	
Rosa spp.	S	e	20	—	35	70	Preref. per 12 mesi	++
Salix spp.	C	m	20-30	L	7	14	—	
Sequoia sempervirens	C	m	20-30	L	7	28	—	
Sophora japonica	C	m	20	—	7	14	Come Gleditschia triacanthos	
Sorbus spp.	S	c	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 4 mesi	++
Spartium junceum	C	m	20	—	7	14	Come Acacia spp.	
Syringa vulgaris	C	m	20	—	7	21	—	
Taxodium distichum	S	c	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 30 gg.	+
Taxus spp.	S	e	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 9 mesi	++
Thuja occidentalis	C	m	20-30	L	7	21	—	
Thuja orientalis	C	m	20-30	—	7	21	—	
Thuja plicata	C	m	20-30	L	7	28	—	
Tilia spp.	S	c	20-30	—	7	28	Preref. a 3-5°C per 6-9 mesi	++
Ulmus spp.	C	m	20-30	L	7	21	Rimozione del pericarpo	++

Colonna 1 - Per i nomi volgari e botanici vedi colonna 1, allegato I-B.

Colonna 2 - La lettera C significa: semi su carta da filtro; TC: semi tra due carte da filtro; CP: semi in carta da filtro pieghettata; S: semi in sabbia; SS: semi su sabbia.
Le caratteristiche dei substrati e dei germinatoi sono precisate nelle sezioni 5.3.1. e 5.5.1.

Colonna 3 - La lettera «c» significa che occorre dare al substrato il grado di umidità elevato, «m» il grado medio, «s» quello scarso, come definiti nella sezione 5.5.1.

Colonna 4 - Un solo numero significa costanza di temperature, due numeri separati da una lineetta alternanza giornaliera di temperatura (8 ore per la più elevata, 16 ore per la più bassa). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 5 - La lettera L significa che la luce è necessaria (250-500 lux per i semi di specie erbacee, 750-1250 lux per quelli di specie arboree e arbustive, per un periodo approssimativo di 8 ore giornaliere). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 6 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione (sezione 5.5.2.) in cui deve essere eseguita la 1ª conta.

Colonna 7 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione e di post-prerefrigerazione (sez. 5.5.3.) in cui deve essere eseguita la conta finale; ovvero indicano il numero di giorni di durata della prova.
In determinati casi la conta finale può essere eseguita con un ritardo di 7 giorni (vedi sezione 5.5.3.).

Colonna 8 - In questa colonna si richiamano le condizioni particolari che, in aggiunta a quelle generali, possono essere adottate per la germinazione dei semi di alcune specie o gruppi di specie e qualora, al termine della prova di germinazione, vi siano semi dormienti. Vedi sezione 5.5.2.

Colonna 9 - Con un asterisco (+) sono indicate quelle specie per le quali la prova al tetrazolo si esegue in sostituzione della prova di germinazione solo se viene richiesta una rapida determinazione della vitalità dei semi del campione.
Con due asterischi (+ +) sono indicate quelle specie per le quali la prova al tetrazolo è sempre preferibile alla prova di germinazione.
Con tre asterischi (+ + +) Sono indicate quelle specie per le quali è prevista la sola prova al tetrazolo.

87A0668